

5

PROLINDERIVATE ALS PHARMAZEUTISCHE WIRKSTOFFE IN DER TUMORTHERAPIE

10

Beschreibung

15

Die Erfindung betrifft Prolin-Derivate, insbesondere cis-Hydroxy-Prolin-Derivate (CHP-Derivate) und deren Salze, pharmazeutische Mittel, die diese umfassen sowie die Verwendung dieser Mittel zur Behandlung von Tumoren. Weiterhin

20 betrifft die Erfindung Verfahren zur Herstellung der genannten Verbindungen und pharmazeutischen Mittel.

25

Der Begriff Tumor oder Krebs bezeichnet ein komplexes Krankheitsbild, bei dem das Wachstum und die Differenzierung der Zellen außer Kontrolle geraten sind. Wird Krebs nicht behandelt, führt er in der Regel zum Tod. Jedes Jahr treten weltweit etwa 7 Millionen neue Fälle von Krebs auf und dies mit steigender Tendenz. Für das Jahr 2000 galt die Krankheit als Todesursache Nummer 1 in den Industrieländern.

30

In den 30-er und 40-er Jahren wurden verschiedene Aminosäuren auf ihre Wirkung auf Tumoren bei Mäusen getestet. Eine der eingesetzten Aminosäuren war hierbei Prolin und

35 Hydroxyprolin. Es zeigte sich in Folgeuntersuchungen, dass

derartige Resultate von Mäusen nicht auf menschliche Krebs-
erkrankungen übertragbar waren (DE 35 38 619).

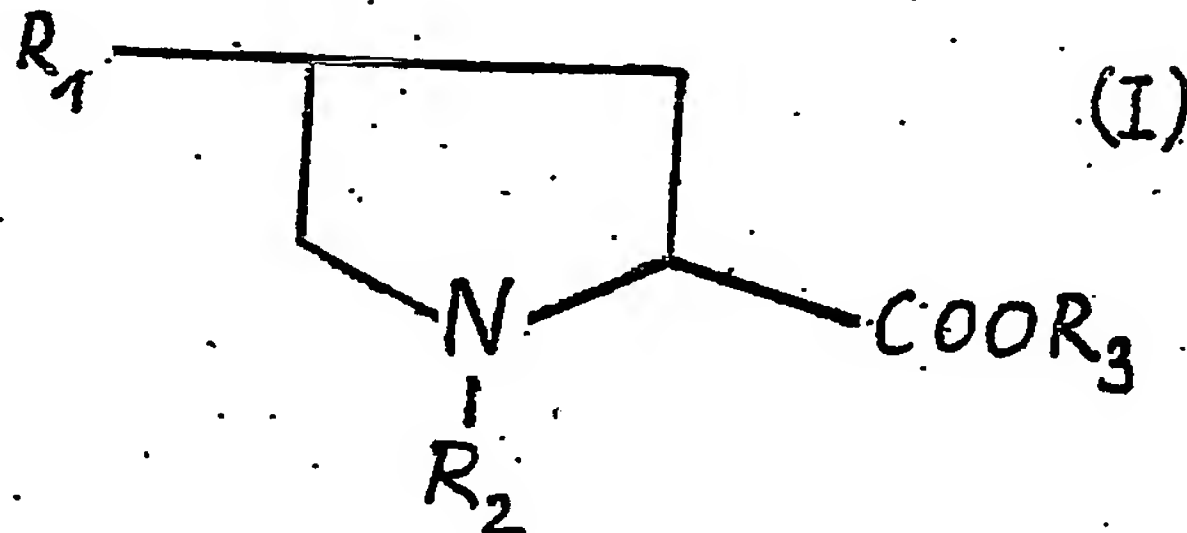
Aufgrund der vielversprechenden Anfangsversuche gab es
5 immer wieder Bemühungen, auf Prolin und Hydroxyprolin ba-
sierende Mittel bereitzustellen, die in der Krebsprophylaxe
und -therapie eingesetzt werden können. So beschreibt zum
Beispiel die Druckschrift DE 35 38 619 die Verwendung von
cis-Isomeren des Hydroxyprolins bei der Behandlung von
10 Karzinomen und verwandten Tumoren. Verschiedene Alkyl-
derivate des Prolins und des Hydroxyprolins sowie ihre Ver-
wendung als Arzneimittel bei der Behandlung von Krebs-
krankheiten werden in der EP 02 223 850 offenbart. Als
Beispiel für die Alkylderivate werden in der EP 02 223 850
15 verschiedene N-Methyl-Derivate diskutiert.

Ein Arzneimittel umfassend die Kombination aus cis-Hydroxy-
prolin und N-Methyl-cis-Hydroxyprolin zur Anwendung als
therapeutischer Wirkstoff, insbesondere für die Krebs-
20 therapie, beschreibt die WO 97/33578. In Zellkulturen von
Tumorzellen wurde gemäß der WO 97/33578 eine antitumorale
Wirkung nachgewiesen, die auf einer signifikanten Hemmung
der Zellproliferation beruht.

25 Die offenbarten Mittel müssen in einer hohen Dosierung ein-
gesetzt werden, um einen Effekt zu erhalten. Auch erwies
sich die Reproduktion der beschriebenen Ergebnisse als sehr
schwierig.

30 Aufgabe der Erfindung war es daher, Mittel bereitzustellen,
die einfach, sicher und effektiv eingesetzt werden können,
um die Proliferation, die Infiltration, die Invasion, die
Angiogenese und/oder die Metastasierung von Krebszellen zu
hemmen bzw. zu verhindern.

Die Erfindung löst diese Aufgabe durch die Bereitstellung einer Verbindung der allgemeinen Formel (I),



,wobei R_1 eine Hydroxy-, eine Aryl- oder eine Aminosäure-Gruppe ist,

R_2 eine Wasserstoff-, eine Alkyl ($C_1 - C_4$)-, eine substituierte Alkyl ($C_1 - C_4$)-Gruppe, eine Dialkyl ($C_1 - C_4$)-,

15 eine Cyclohexyl-, eine Phenyl- oder Diphenyl-Gruppe ist,

R_3 eine Alkyl ($C_2 - C_5$)-Gruppe ist,

und/oder deren Salze,

mit der Maßgabe, dass, wenn R_1 eine Hydroxy-Gruppe ist, R_2 von einer Methyl-Gruppe verschieden ist.

20 Überraschend konnte gezeigt werden, dass die genannten Verbindungen, das heißt Hydroxyprolin(CHP)-Derivate, auch in hohen Dosen, wie beispielsweise von mehr als 0,1 bzw. 0,2 g pro kg Körpergewicht, ohne wesentliche Nebenwirkungen eingesetzt werden können. Es war überraschend, dass die neuen

25 Derivate, insbesondere die N-Di-Methyl-Ester und Phenyl-amino-Carbonyl-Ester wie auch die weiteren beanspruchten Verbindungen effektiver als die bekannten Antiproliferationsmittel eingesetzt werden können.

30 Die erfindungsgemäßen Mittel können intravenös, beispielsweise in einem Bereich von 5 bis 15 g und oral in einem Bereich von zum Beispiel 50 bis 150 g pro Tag verabreicht werden. Während die bekannten Prolin-Derivate insbesondere

35 für Karzinome, das heißt für Tumoren epithelialer Herkunft

eingesetzt werden können, ist es möglich, die erfindungsgemäßen Mittel bei zahlreichen Krankheiten einzusetzen, die durch eine Zellproliferation bzw. durch eine Metastasierung wesentlich bestimmt werden.

5

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können insbesondere mit Vorteil als Hybridmoleküle bzw. in Kombinationsmitteln eingesetzt werden. Die Hybridmoleküle können beispielsweise Strukturen sein, die die erfindungsgemäßen Verbindungen
10 gebunden an Oxoplatin umfassen bzw. an Oxoplatin und 5-Fluorouracil (5-FU). Die Hybridmoleküle können nach den dem Fachmann bekannten galenischen Methoden so bereitgestellt werden, dass sie als Prodrug eingesetzt werden können.

15

Die Ausnutzung der Endocytose für die zelluläre Wirkstoffaufnahme polarer Verbindungen ist zwar für einige, besonders langlebige Substanzen sehr wirkungsvoll, lässt sich aber nur sehr schwer auf eine allgemeinere Anwendung übertragen. Eine Alternative hierzu bildet das dem Fachmann allgemein bekannte Prodrug-Konzept. Definitionsgemäß enthält ein Prodrug seinen Wirkstoff in Form eines nicht aktiven Vorläufer-Metaboliten. Man kann zwischen teilweise
20 mehrteiligen Carrier-Prodrug-Systemen und Biotransformations-Systemen unterscheiden. Letztere enthalten den aktiven Wirkstoff in einer Form, die eine chemische bzw. eine biologische Metabolisierung erfordert. Dem Fachmann sind solche Prodrug-Systeme bekannt. Carrier-Prodrug-Systeme enthalten den Wirkstoff als solchen, gebunden an eine Maskierungsgruppe, die sich durch einen möglichst einfachen
30 kontrollierbaren Mechanismus abspalten lässt. Die erfindungsgemäße Funktion von Maskierungsgruppen bei den erfindungsgemäßen Verbindungen ist die Neutralisierung der Ladung zur verbesserten Zellaufnahme. Sofern die erfindungsgemäßen Verbindungen mit einer Maskierungsgruppe ver-
35

wendet werden, kann diese zusätzlich auch andere pharmakologische Parameter beeinflussen, wie zum Beispiel die orale Bioverfügbarkeit, die Gewebeverteilung, die Pharmakokinetik sowie die Stabilität gegenüber unspezifischen Phosphatasen. Die verzögerte Freisetzung des Wirkstoffs kann außerdem einen Depoteffekt mit sich bringen. Weiterhin kann eine modifizierte Metabolisierung eintreten, wodurch eine höhere Wirkstoffeffizienz oder organische Spezifität erreicht wird. Im Falle einer Prodrug-Formulierung werden die Maskierungsgruppe oder eine Linkergruppe, die die Maskierungsgruppe an den Wirkstoff bindet, so ausgewählt, dass das Prodrug eine ausreichende Hydrophilie aufweist, um im Blutserum gelöst zu werden, eine ausreichende chemische und enzymatische Stabilität besitzt, um zum Wirkort zu gelangen sowie eine solche Hydrophilie besitzt, dass diese für einen diffusionskontrollierten Membrantransport geeignet ist. Weiterhin soll sie eine chemisch oder enzymatisch induzierte Freisetzung des Wirkstoffs innerhalb eines sinnvollen Zeitraums ermöglichen und selbstverständlich sollen die freigesetzten Hilfskomponenten keine Toxizität aufweisen. Im Sinne der Erfindung kann jedoch auch die Verbindung ohne eine Maske bzw. einen Linker und eine Maske als Prodrug aufgefasst werden, welches durch enzymatische und biochemische Vorgänge zunächst aus der aufgenommenen Verbindung in der Zelle bereitgestellt werden muss.

Bevorzugt handelt es sich bei den Aminosäuren um natürliche oder artifizielle Aminosäuren, wie sie zum Beispiel in Biochemie; Berg, Tymoczko, Stryer (2003) oder anderen Standardwerken der Biologie offenbart sind.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist R_1 eine Hydroxy-, eine Phenylamino- oder eine Aminosäure-Gruppe,

R₂ ist eine Wasserstoff-, eine Methyl-, eine Dimethyl-, eine Cyclohexyl- oder eine Diphenylmethyl-Gruppe, R₃ eine Ethyl-, eine Isobutyl- und/oder eine Wasserstoff-Gruppe ist.

5

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst die Phenylamino-Gruppe der Verbindungen modifizierte Aminogruppen, insbesondere Phenylamino-Carboxyloxy-Gruppen. Besonders bevorzugt ist es, wenn die Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend 4-Hydroxyprolinethylester, 10 4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolinethylester-Jodid, 4-Hydroxyprolin-isobutyl-ester, 4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolin-isobutylester-Jodid, 4-Hydroxy-1-cyclohexylprolin-isobutylester, 4-Hydroxy-1-diphenylmethyl-prolin-isobutylester-15 hydrobromid, 4-Hydroxy-1-methyl-prolin, 4-Hydroxy-1-methylprolinethylester, 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester, 1-Methyl-4-phenylamino-carbonyl-oxy-prolin und/oder 1-Methyl-4-phenylamino-carboxyloxy-prolin-isobutylester.

20 Die Erfindung betrifft auch ein pharmazeutisches Mittel, welches eine erfindungsgemäße Verbindung umfasst, gegebenenfalls zusammen mit üblichen Hilfsstoffen, bevorzugt pharmazeutisch akzeptablen Trägern, Adjuvantien und/oder Vehikeln.

25

Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können in Form von Salzen verwendet werden, die von anorganischen oder organischen Säuren abgeleitet sind. Eingeschlossen unter solchen Salzen sind zum Beispiel die Folgenden: Acetat, 30 Adipat, Alginat, Aspartat, Benzoat, Benzolsulfonat, Bisulfat, Citrat, Camphorat, Camphersulfonat, Cyclopentanpropionat, Digluconat, Dodecylsulfat, Ethansulfonat, Fumarat, Glucoheptanoat, Glycerophosphat, Hemisulfat, Heptanoat, Hexanoat, Hydrochlorid, Hydrobromid, Hydrojodid, 35 2-Hydroxyethansulfonat, Lactat, Maleat, Methansulfonat,

2-Naphthalinsulfonat, Nicotinat, Oxalat, Palmoat, Pektinat, Persulfat, 3-Phenylpropionat, Pikrat, Pivalat, Propionat, Succinat, Tartrat, Thiocyanat, Tosylat und Undecanoat, besonders bevorzugt handelt es sich bei den Salzen der
5 Verbindungen um Jodide, Bromide und/oder Chloride.

Ein pharmazeutisches Mittel im Sinne der Erfindung ist jedes Mittel im Bereich der Medizin, welches in der Prophylaxe, Diagnose, Therapie, Verlaufskontrolle oder Nach-
10 behandlung von Patienten eingesetzt werden kann, die insbesondere mit Tumorzellen oder Kanzerogenen so in Kontakt gekommen sind, dass sich zumindest zeitweise eine pathogene Modifikation des Gesamtzustandes bzw. des Zustandes einzelner Teile des Organismus etablieren konnte. So ist es beispielsweise möglich, dass das pharmazeutische Mittel im
15 Sinne der Erfindung ein Vakzin, ein Immuntherapeutikum oder ein Immunprophylaktikum ist. Das pharmazeutische Mittel im Sinne der Erfindung kann die erfindungsgemäße Verbindung bzw. die erfindungsgemäße Verbindung und/oder ein akzeptables Salz oder Komponenten von diesen umfassen. Hierbei
20 kann es sich beispielsweise um Salze anorganischer Säuren handeln, wie zum Beispiel der Phosphorsäure, bzw. um Salze organischer Säuren. Weiterhin ist es möglich, dass die Salze frei von Carboxylgruppen sind und von anorganischen Basen abgeleitet wurden, wie zum Beispiel Natrium-, Kalium-,
25 Ammonium-, Kalzium- oder Eisenhydroxyde oder auch von organischen Basen wie Isopropylamin, Trimethylamin, 2-Ethylaminoethanol, Histidin und anderen. Beispiele für flüssige Träger sind sterile wässrige Lösungen, die keine
30 weiteren Materialien oder aktiven Ingredienzien umfassen, wie beispielsweise Wasser oder solche, die einen Puffer wie zum Beispiel Natriumphosphat mit einem physiologischen pH-Wert umfassen oder eine physiologische Salzlösung bzw. beides, wie zum Beispiel phosphatgepufferte Natrium-
35 chloridlösung. Weitere flüssige Träger können mehr als nur

ein Puffersalz, wie zum Beispiel Natrium- und Kaliumchlorid, Dextrose, Propylenglycol, Polyethylenglycol oder andere umfassen.

5 Flüssige Zusammensetzungen der pharmazeutischen Mittel können zusätzlich eine flüssige Phase, auch unter dem Ausschluss von Wasser, umfassen. Beispiele solcher zusätzlichen flüssigen Phasen sind Glycerin, Pflanzenöle, organische Ester oder Wasser-Öl-Emulsionen. Die pharmazeutische
10 Zusammensetzung bzw. das pharmazeutische Mittel enthält typischerweise einen Gehalt von mindestens 0,1 Gew% der erfindungsgemäßen Verbindungen bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zusammensetzung.

Bevorzugt werden 4-Hydroxyprolinethylester, 4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolinethylester-Jodid, 4-Hydroxyprolin-isobutylester,
15 4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolinisobutylester-Jodid, 4-Hydroxy-1-cyclohexylprolin-isobutylester, 4-Hydroxy-1-diphenylmethyl-prolin-isobutylester-hydrobromid, 4-Hydroxy-1-methyl-prolin,
4-Hydroxy-1-methyl-prolinethylester,
20 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester, 1-Methyl-4-phenyl-amino-carbonyl-oxy-prolin, 1-Methyl-4-phenylamino-carbonyl-oxy-prolin-isobutylester, (R)-(+)- α,α -Diphenyl-2-pyrrolidinemethanol und/oder (S)-(-)- α,α -Diphenyl-2-pyrrolidinemethanol zur Diagnose, Prophylaxe, Verlaufskontrolle,
25 Therapie und/oder Nachbehandlung von mit Zellwachstum, -differenzierung und/oder -teilung im Zusammenhang stehenden Krankheiten, insbesondere Tumoren eingesetzt. Die jeweilige Dosis bzw. der Dosisbereich für die Gabe des erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittels ist groß genug,
30 um den gewünschten prophylaktischen oder therapeutischen antiviralen Effekt zu erreichen. Hierbei sollte die Dosis nicht so gewählt werden, dass unerwünschte Nebeneffekte dominieren. Im Allgemeinen wird die Dosis mit dem Alter, der Konstitution, dem Geschlecht des Patienten variieren
35 sowie selbstverständlich auch in Bezug auf die Schwere der

Erkrankung. Die individuelle Dosis kann sowohl in Bezug auf die primäre Erkrankung als auch in Bezug auf das Eintreten zusätzlicher Komplikationen eingestellt werden. Die exakte Dosis ist durch einen Fachmann mit bekannten Mitteln und Methoden feststellbar, beispielsweise durch die Feststellung der Größe des Tumors, der Leukozytenzahl oder ähnliches in Abhängigkeit der Dosis bzw. in Abhängigkeit des Impfschemas oder der pharmazeutischen Träger und ähnlichem. Die Dosis kann hierbei je nach Patient individuell gewählt werden. Beispielsweise kann eine vom Patienten noch tolerierte Dosis des pharmazeutischen Mittels eine solche sein, deren Bereich im Plasma oder in einzelnen Organen lokal im Bereich von 0,1 bis 100000 μM liegt, bevorzugt zwischen 1 und 1000 μM . Alternativ kann die Dosis auch in Bezug auf das Körpergewicht des Patienten bezogen berechnet werden. In einem solchen Fall wäre beispielsweise eine typische Dosis des pharmazeutischen Mittels in einem Bereich von mehr als 0,1 g per kg Körpergewicht einzustellen, bevorzugt zwischen 0,1 und 5000 g/kg. Weiterhin ist es jedoch auch möglich, die Dosis nicht in Bezug auf den gesamten Patienten, sondern in Bezug auf einzelne Organe zu bestimmen. Dies wäre beispielsweise dann der Fall, wenn das erfindungsgemäße pharmazeutische Mittel beispielsweise in einem Biopolymer, eingebracht in den jeweiligen Patienten, in der Nähe bestimmter Organe mittels einer Operation platziert wird. Dem Fachmann sind mehrere Biopolymere bekannt, die Moleküle in einer gewünschten Art und Weise freisetzen können. Ein solches Gel kann beispielsweise 1 bis 1000 g der erfindungsgemäßen Verbindungen bzw. des pharmazeutischen Mittels pro ml Gelkomposition beinhalten, bevorzugt zwischen 5 bis 500 g/ml und besonders bevorzugt zwischen 10 und 100 g/ml. In solch einem Fall wird das therapeutische Mittel als feste, gelartige oder als flüssige Komposition verabreicht.

Neben den bereits ausgeführten Konzentrationen bei der Anwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen, können in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform die Verbindungen weiterhin in einer Gesamtmenge von 0,05 bis 500 g/kg Körpergewicht je 24 Stunden eingesetzt werden, bevorzugt von 1 bis 10 g/kg Körpergewicht. Hierbei handelt es sich vorteilhafterweise um eine therapeutische Menge, die verwendet wird, um die Symptome einer Störung oder responsiven, pathologisch physiologischen Kondition zu verhindern oder zu verbessern. Die verabreichte Menge ist ausreichend, um das Wachstum, die Metastasierung, die Invasion, die Infiltration und/oder die Angiogenese des Tumors zu verhindern oder zu hemmen. Die Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindung auf die Tumoren in Hinsicht auf ihr prophylaktisches oder therapeutisches Potential zeigt sich zum Beispiel als Inhibition des Wachstums oder anders. Die therapeutische Wirkung kann beispielsweise auch darin bestehen, dass durch die Applikation der erfindungsgemäßen Verbindungen als erwünschter Nebeneffekt bestimmte anti-tumorale Medikamente besser wirken oder durch Verminderung der Dosis die Anzahl der Nebenwirkungen dieser Medikamente reduziert wird. Selbstverständlich schließt die therapeutische Wirkung auch ein direktes Einwirken auf den Tumor ein. Das heißt jedoch, die Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen ist nicht auf eine Eliminierung der Tumoren beschränkt, sondern umfasst das gesamte Spektrum vorteilhafter Wirkungen in der Prophylaxe und Therapie. Selbstverständlich wird die Dosis - wie bereits ausgeführt - vom Alter, der Gesundheit und dem Gewicht des Empfängers, dem Grad der Krankheit, der Art einer notwendigen gleichzeitigen Behandlung, der Häufigkeit der Behandlung und der Art der gewünschten Wirkungen und der Nebenwirkungen abhängen. Die tägliche Dosis von 0,05 bis 500 g/kg Körpergewicht kann einmalig oder mehrfach angewendet werden, um die gewünschten Ergebnisse zu erhalten. Die Dosishöhen pro

Tag sind bei der Vorbeugung und bei der Behandlung einer Tumorerkrankung anwendbar. Typischerweise werden insbesondere pharmazeutischen Mittel zur etwa 1- bis 15-maligen Verabreichung pro Tag oder alternativ oder zusätzlich als
5 kontinuierliche Infusion verwendet. Solche Verabreichungen können als chronische oder akute Therapie angewendet werden. Die Wirkstoffmengen, die mit den Trägermaterialien kombiniert werden, um eine einzelne Dosierungsform zu erzeugen, können in Abhängigkeit von dem zu behandelnden
10 Wirt und der besonderen Verabreichungsart selbstverständlich variieren. Bevorzugt ist es, die Targetsdosis auf 2 bis 5 Applikationen zu verteilen, wobei bei jeder Applikation 1 bis 2 Tabletten mit einem Wirkstoffgehalt von 0,05 bis 5 g/kg Körpergewicht verabreicht werden. Selbst-
15 verständlich ist es möglich, den Wirkstoffgehalt auch höher zu wählen, beispielsweise bis zu einer Konzentration bis 500 g/kg. Beispielsweise können Tabletten auch retardiert sein, wodurch sich die Anzahl der Applikationen pro Tag auf 1 bis 3 vermindert. Der Wirkstoffgehalt der retardierten
20 Tabletten kann 3 bis 300 g betragen. Wenn der Wirkstoff - wie ausgeführt - durch eine Injektion verabreicht wird, ist es bevorzugt, 1- bis 8-mal pro Tag bzw. durch Dauerinfusion den Wirt mit den erfindungsgemäßen Verbindungen in Kontakt zu bringen, wobei Mengen von 4 bis 400 g pro Tag
25 bevorzugt sind. Die bevorzugten Gesamtmengen pro Tag haben sich in der Humanmedizin und in der Veterinärmedizin als vorteilhaft erwiesen. Es kann erforderlich sein, von den genannten Dosierungen abzuweichen und zwar in Abhängigkeit von der Art und dem Körpergewicht des zu behandelnden
30 Wirts, der Art und der Schwere der Erkrankung, der Art der Zubereitung der Applikation des Arzneimittels sowie dem Zeitraum bzw. dem Intervall, innerhalb welchem die Verabreichung erfolgt. So kann es in einigen Fällen bevorzugt sein, den Organismus mit weniger als den genannten Mengen
35 in Kontakt zu bringen, während in anderen Fällen die

angegebene Wirkstoffmenge überschritten werden muss. Die Festlegung der jeweils erforderlichen optimalen Dosierungen und der Applikationsart der Wirkstoffe kann durch den Fachmann aufgrund seines Fachwissens leicht erfolgen. In
5 einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden die erfindungsgemäßen Verbindungen oder die pharmazeutischen Mittel, in einer Einzelgabe von 1 bis 80, insbesondere von 1 bis 30 g/kg Körpergewicht eingesetzt. Wie auch die Gesamtmenge pro Tag kann auch die
10 Menge der Einzelgabe pro Applikation von dem Fachmann aufgrund seines Fachwissens variiert werden. Die erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen können in den genannten Einzelkonzentrationen und Zubereitungen zusammen mit dem Futter bzw. mit Futterzubereitungen oder mit dem Trink-
15 wasser auch in der Veterinärmedizin gegeben werden. Eine Einzeldosis enthält vorzugsweise die Menge Wirkstoff, die bei einer Applikation verabreicht wird, und die gewöhnlich einer ganzen, einer halben Tagesdosis oder einem Drittel oder einem Viertel einer Tagesdosis entspricht. Die
20 Dosierungseinheiten können demgemäß bevorzugt 1, 2, 3 oder 4 oder mehrere Einzeldosen oder 0,5, 0,3 oder 0,25 einer Einzeldosis enthalten. Bevorzugt wird die Tagesdosis der erfindungsgemäßen Verbindungen auf 2 bis 10 Applikationen verteilt, bevorzugt auf 2 bis 7, besonders bevorzugt auf 3
25 bis 5 Applikationen. Selbstverständlich ist auch eine Dauerinfusion der erfindungsgemäßen Mittel möglich.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden bei jeder oralen Applikation der erfindungsgemäßen Verbindungen 1 bis 2 Tabletten gegeben. Die
30 erfindungsgemäßen Tabletten können mit dem Fachmann bekannten Überzügen und Hüllen versehen sein und auch so zusammengesetzt werden, dass sie den oder die Wirkstoffe nur bei bevorzugten, in einem bestimmten Teil des Wirts
35 freigeben.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung können die erfindungsgemäßen Verbindungen mit mindestens einem anderen bekannten pharmazeutischen Mittel eingesetzt werden. Das heißt, die erfindungsgemäßen Verbindungen können in einer prophylaktischen oder therapeutischen Kombination in Verbindung mit den bekannten Arzneimitteln eingesetzt werden. Diese Kombinationen können gemeinsam, zum Beispiel in einer einheitlichen pharmazeutischen Formulierung verabreicht werden, oder getrennt, zum Beispiel in Form einer Kombination aus Tabletten, Injektion oder anderen Medikamenten, die zu gleichen oder zu unterschiedlichen Zeiten verabreicht werden, mit dem Ziel, die gewünschte prophylaktische oder therapeutische Wirkung zu erzielen. Bei diesen bekannten Mitteln kann es sich um Mittel handeln, die die Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen steigern. Dies schließt antibakterielle oder antivirale Mittel wie Benzylpyrimidine, Pyrimidine, Sulphamide, Rifampicin, Tobramycin, Fusidinsäure, Clindamycin, Chloramphenicol und Erythromycin ein. Demzufolge betrifft eine zusätzliche Ausführungsform der Erfindung eine Kombination, in der das zweite Mittel wenigstens eines aus den vorstehend erwähnten antiviralen oder antibakteriellen Mitteln oder Klassen von Mitteln ist. Es sei auch darauf hingewiesen, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen und Kombinationen auch in Verbindung mit immunmodulatorischen Behandlungen und Therapien verwendet werden können.

Typischerweise gibt es ein optimales Verhältnis der erfindungsgemäßen Verbindung(en) untereinander und/oder mit anderen therapeutischen oder wirkungssteigernden Mitteln (wie Transportinhibitoren, Stoffwechsellinhibitoren, Inhibitoren für die Nierenausscheidung oder Glukuronidation, wie Probenecid, Acetaminophen, Aspirin, Lorazepan, Cimetidin, Ranitidin, Colifibrat, Indomethacin, Ketoprofen, Naproxen

etc.) in dem die Wirkstoffe in einem optimalen Verhältnis vorliegen. Ein optimales Verhältnis ist als das Verhältnis definiert, bei dem die erfindungsgemäße(n) Verbindung(en) mit einem anderen therapeutischen Mittel oder Mitteln so ist, dass die therapeutische Gesamtwirkung größer ist als die Summe der Wirkungen der einzelnen therapeutischen Mittel. Das optimale Verhältnis findet man üblicherweise, wenn die Mittel im Verhältnis von 10:1 bis 1:10, 20:1 bis 1:20, 100:1 bis 1:100 und 500:1 bis 1:500 vorliegen. Gelegentlich wird eine verschwindend geringe Menge eines therapeutischen Mittels genügen, um die Wirkung eines oder mehrerer anderer Mittel zu steigern. Zusätzlich ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen in Kombinationen besonders nützlich, um das Risiko der Resistenzentwicklung der Tumoren herabzusetzen. Selbstverständlich können die erfindungsgemäßen Verbindungen in Kombination mit anderen bekannten antitumoralen Mitteln verwendet werden. Dem Fachmann sind derartige Mittel bekannt. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können demgemäß mit allen herkömmlichen Mitteln, insbesondere anderen Arzneimitteln, verabreicht werden, die für die Verwendung im Zusammenhang insbesondere mit Tumor-Arzneimitteln verfügbar sind, entweder als einzelne Arzneimittel oder in Kombination von Arzneimitteln. Sie können allein verabreicht werden oder in Kombination mit diesen.

Bevorzugt ist es, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen mit den anderen bekannten pharmazeutischen Mitteln im Verhältnis von etwa 0,005 zu 1 verabreicht werden. Bevorzugt ist es, die erfindungsgemäßen Verbindungen mit insbesondere tumorhemmenden Mitteln im Verhältnis von 0,05 bis etwa 0,5 Teilen zu etwa 1 Teil der bekannten Mittel zu verabreichen. Hierbei kann es sich auch um antibakterielle Mittel handeln. Die pharmazeutische Zusammensetzung kann in Substanz oder als wässrige Lösung vorliegen zusammen mit anderen

Materialen wie Konservierungsmitteln, Puffersubstanzen, Mitteln die zur Einstellung der Osmolarität der Lösung vorgesehen sind etc. Die Erfindung betrifft auch einen Kit, der die erfindungsgemäßen Verbindungen umfasst, gegeben-
5 nenfalls mit einer Information zum Kombinieren der Inhalte des Kits. Die Informationen zum Kombinieren der Inhalte des Kits betreffen die Verwendung des Kits zur Prophylaxe und/oder Therapie von Erkrankungen, insbesondere tumoralen Erkrankungen. Die Informationen können sich beispielsweise
10 auch auf ein Therapieschema beziehen, das heißt auf ein konkretes Injektions- oder Applikationsschema, auf die zu verabreichende Dosis oder anderes.

Bevorzugt kann das pharmazeutische Mittel weiter ein oder
15 mehrere zusätzliche Mittel aus der Gruppe antiviraler, fungizider oder antibakterieller Mittel und/oder Immunstimulatoren bzw. Chemotherapeutika umfassen. Bevorzugt handelt es sich bei dem antiviralen Mittel um Protease-Hemmstoffe und/oder Reverse-Transkriptase-Hemmstoffe. Bei
20 den Immunstimulatoren handelt es sich bevorzugt um Bropirimin, anti-humane alpha-Interferon Antikörper, IL-2, GM-CSF, Interferone, Diethyldithiocarbamat, Tumor-Nekrose-Faktoren, Naltrexon, Tuscarasol und/oder rEPO. Bei den Chemotherapeutika handelt es sich bevorzugt um
25 Alitretinoin, Aldesleukin (IL-2), Altretamine, All-trans-retinoic acid (Tretinoin), Aminoglutethimide, Anagrelide, Anastrozole, Asparaginase (*E. coli*), Azathioprine, Bicalutamide, Bleomycin, Busulfan, Capecitabine, Carboplatin, Carmustine, Chlorambucil, Cisplatin, Cladribine (2-CDA),
30 Cyclophosphamide, Cytarabine, Dacarbazine, Dactinomycin-D, Daunorubicin (Daunomycin), Daunorubicin, liposomal, Dexamethasone, Docetaxel, Doxorubicin, Doxorubicin, liposomal, Epirubicin, Estramustine Phosphate, Etoposide (VP-16-213), Exemestane, Floxuridine, 5-Fluorouracil,
35 Fludarabine, Fluoxymesterone, Flutamide, Gemcitabine,

Gemtuzmab, Goserelin Acetate, Hydroxyurea, Idarubicin, Ifosfamide, Imatmib Mesylate, Irinotecan, α -Interferon, Letrozole, Leuprolide Acetate, Levamisole HCl, Lomustine, Megestrol Acetate, Melphalan (L-phenylalanine mustard),
5 6-Mercaptopurine, Methotrexate, Methoxsalen (8-MOP), Mitomycin-C, Mitotane, Mitoxantrone, Nilutamide, Nitrogen Mustard (Methchloroethamine hydrochloride), Octreotide, Paclitaxel, Pegaspargase, Pentostatin (2'-deoxycoformycin), Plicamycin, Porfimer, Prednisone, Procarbazine, Rituximab,
10 Streptozotocin, Tamoxifen, Teniposide (VM-26), 6-Thioguanine, Thalidomide, Thiotepa, Topotecan, Toremifene, Trastuzumab, Trimetrexate, Vinblastine, Vincristine und/oder Vinorelbine. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können auch zusammen mit Immunmodulatoren bzw. Immun-
15 stimulatoren verwendet werden; bevorzugte Immunmodulatoren oder Immunstimulatoren sind: Propirimin, anti-humane α -Interferon-Antikörper, IL-2, GM-CSF, Interferon α , Diethyldithiocarbamat, Tumor-Nekrose-Faktor, Naltrexon, Tuscarasol, rEPO und Antibiotika wie zum Beispiel
20 Pentamidinisethionat; aber auch Mittel, die mit viralen Erkrankungen verbundene maligne Tumoren verhindern oder bekämpfen. Bei dem Verfahren zur Behandlung der viralen, bakteriellen, fungiziden und/oder parasitären Infektion oder von Krebs können die erfindungsgemäßen Verbindungen
25 - wie bereits oben ausgeführt - mit verträglichen Trägern, Adjuvanzen oder Vehikeln verabreicht werden. Pharmazeutisch verträgliche Träger, Adjuvanzen und Vehikel, die in den Arzneimitteln dieser Erfindung verwendet werden können, schließen Ionenaustauscher, Aluminiumoxid,
30 Aluminiumstearat, Lecithin, selbstemulgierende Arzneistoffabgabesysteme (SEDDS), wie α -Tocopherolpolyethylenglycol-1000-succinat, oder andere ähnliche polymere Abgabematrizes, Serumproreine, wie Humanserumalbumin, Pufferstoffe, wie Phosphate, Glycin, Sorbinsäuren, Kaliumsorbat,
35 partielle Glyceridgemische gesättigter pflanzlicher Fett-

säuren, Wasser, Salze oder Elektrolyte, wie Protaminsulfat, Dinatriumhydrogenphosphat, Kaliumhydrogenphosphat, Natriumchlorid, Zinksalze, kolloidales Siliciumdioxid, Magnesiumtrisilicat, Polyvinylpyrrolidon, Stoffe auf Cellulosebasis, Polyethylenglycol, Natriumcarboxymethylcellulose, Polyacrylate, Wachse, Polyethylen-Polyoxypropylen-Blockpolymere, Polyethylenglycol und Wollfett ein, aber sind nicht darauf beschränkt. Cyclodextrine, wie α -, β -, und γ -Cyclodextrin, oder chemisch modifizierte Derivate, wie Hydroxyalkylcyclodextrine, einschließlich 2- und 3-Hydroxypropyl- β -cyclodextrine, oder andere löslich gemachte Derivate können auch vorteilhafterweise verwendet werden, um die Abgabe der erfindungsgemäßen Verbindungen zu steigern. Im Zusammenhang mit dem Verfahren können die erfindungsgemäßen Verbindungen oral, parenteral, durch Inhalations-spray, topisch, rektal, nasal, bukkal, vaginal oder über ein implantiertes Reservoir verabreicht werden. Die orale Verabreichung oder die Verabreichung durch Injektion ist als Form des In-Kontakt-Bringens bevorzugt. Die Arzneimittel dieser Erfindung können beliebige herkömmliche ungiftige pharmazeutisch verträgliche Träger, Adjuvanzien oder Vehikel enthalten. In einigen Fällen kann der pH-Wert der Formulierung mit pharmazeutisch verträglichen Säuren, Basen oder Puffern eingestellt werden, um die Stabilität der formulierten Verbindung oder ihrer Abgabeform zu erhöhen. Der Begriff parenteral, wie er hier verwendet wird, schließt subkutane, intrakutane, intravenöse, intramuskuläre, intraartikuläre, intrasynoviale, intrasternale, intrathekale, intraläsionale und intrakranielle Injektions- oder Infusionsverfahren in Form des In-Kontakt-Bringens ein.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind die Träger ausgewählt aus der Gruppe umfassend Füllmittel, Streckmittel, Bindemittel, Feuchthaltemittel,

Sprengmittel, Lösungsverzögerer, Resorptionsbeschleuniger, Netzmittel, Adsorptionsmittel, und/oder Gleitmittel.

Hierbei handelt es sich bei den Füll- und Streckmitteln bevorzugt Stärken, Milchzucker, Rohrzucker, Glukose, Mannit und Kieselsäure, bei dem Bindemittel, bevorzugt Carbocymethylcellulose, Alginate, Gelatine, Polyvinylpyrrolidon, bei dem Feuchthaltemittel bevorzugt um Glycerin, bei dem Sprengmittel bevorzugt um Agar-Agar, Calciumcarbonat und Natriumcarbonat, bei dem Lösungsverzögerer vorzugsweise um Paraffin und bei dem Resorptionsbeschleuniger bevorzugt um quarternäre Ammoniumverbindungen, bei dem Netzmittel bevorzugt um Cetylalkohol und Glycerinmonostearat, bei dem Adsorptionsmittel bevorzugt um Kaolin und Bentonit und bei dem Gleitmittel bevorzugt um Talkum, Calcium- und Magnesiumstearat und feste Polythylenglykole oder Gemische der aufgeführten Stoffe.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden die erfindungsgemäßen Verbindungen als pharmazeutisches Mittel als Gel, Puder, Pulver, Tablette, Retard-Tablette, Premix, Emulsion, Aufgussformulierung, Tropfen, Konzentrat, Granulat, Sirup, Pellet, Boli, Kapsel, Aerosol, Spray und/oder Inhalat zubereitet und/oder in dieser Form angewendet. Die Tabletten, Dragees, Kapseln, Pillen und Granulate können mit den üblichen, gegebenenfalls Opakisierungsmitteln enthaltenden, Überzügen und Hüllen versehen sein und auch so zusammengesetzt sein, dass sie den oder die Wirkstoffe nur oder bevorzugt in einem bestimmten Teil des Intestinaltraktes gegebenenfalls verzögert abgeben, wobei als Einbettungsmassen zum Beispiel Polymersubstanzen und Wachse verwendet werden können.

Die Verbindungen oder Arzneimittel dieser Erfindung können bevorzugt zur oralen Verabreichung in einer beliebigen oral

verträglichen Dosierungsform verwendet werden, die Kapseln, Tabletten und wässrige Suspensionen und Lösungen einschließt, aber nicht darauf beschränkt ist. Im Fall von Tabletten zur oralen Verwendung schließen Träger, die häufig verwendet werden, Lactose und Maisstärke ein. Gleitmittel, wie Magnesiumstearat, werden typischerweise zugesetzt. Zur oralen Verabreichung in Kapselform schließen verwendbare Verdünnungsmittel Lactose und getrocknete Maisstärke ein. Wenn wässrige Suspensionen oral verabreicht werden, wird der Wirkstoff mit Emulgier- und Suspendiermitteln kombiniert. Falls gewünscht, können bestimmte Süßmittel und/oder Geschmacksstoffe und/oder Farbmittel zugesetzt werden.

Die Verbindungen können gegebenenfalls mit einem oder mehreren der oben angegebenen Trägerstoffe auch in mikroverkapselter Form vorliegen.

Suppositorien können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen wasserlöslichen oder wasserunlöslichen Trägerstoffe enthalten, zum Beispiel Polyethylenglycole, Fette, zum Beispiel Kakaofett und höhere Ester (zum Beispiel C₁₄-Alkohol mit C₁₆-Fettsäure) oder Gemische dieser Stoffe).

Salben, Pasten, Cremes und Gele können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe enthalten, zum Beispiel tierische und pflanzliche Fette, Wachse, Paraffine, Stärke, Tragant, Cellulosederivate, Polyethylenglycole, Silikone, Bentonite, Kieselsäure, Talkum und Zinkoxid oder Gemische dieser Stoffe.

Puder und Sprays können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe enthalten, zum Beispiel Milchzucker, Talkum, Kieselsäure, Aluminiumhydroxid, Calciumsilikat und Polyamidpulver oder Gemische dieser Stoffe. Sprays können

zusätzlich die üblichen Treibmittel, zum Beispiel Chlorfluorkohlenwasserstoffe, enthalten.

Lösungen und Emulsionen können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe wie Lösungsmittel, Lösungsvermittler und Emulgatoren, zum Beispiel Wasser, Ethylalkohol, Isopropylalkohol, Ethylcarbonat, Ethylacetat, Benzylalkohol, Benzylbenzoat, Propylenglykol, 1,3-Butylenglykol, Dimethylformamid, Öle, insbesondere Baumwollsaatöl, Erdnussöl, Maiskeimöl, Olivenöl, Ricinusöl und Sesamöl, Glycerin, Glycerinformal, Tetrahydrofurfurylalkohol, Polyethylenglycole und Fettsäureester des Sorbitans oder Gemische dieser Stoffe enthalten. Zur parenteralen Applikation können die Lösungen und Emulsionen auch in steriler und blutisotonischer Form vorliegen.

Suspensionen können neben dem oder den Wirkstoffen die üblichen Trägerstoffe wie flüssige Verdünnungsmittel, zum Beispiel Wasser, Ethylalkohol, Propylenglykol, Suspendiermittel, zum Beispiel ethoxilierte Isostearylalkohole, Polyoxyethylensorbit- und Sorbitan-Ester, mikrokristalline Cellulose, Aluminiummetahydroxid, Bentonit, Agar-Agar und Tragant oder Gemische dieser Stoffe enthalten.

Die Arzneimittel können in Form einer sterilen injizierbaren Zubereitung, zum Beispiel als sterile injizierbare wässrige oder ölige Suspension, vorliegen. Diese Suspension kann auch im Fachgebiet bekannten Verfahren unter Verwendung geeigneter Dispergier- oder Netzmittel (wie zum Beispiel Tween 80) und Suspendiermittel formuliert werden. Die sterile injizierbare Zubereitung kann auch eine sterile injizierbare Lösung oder Suspension in einem ungiftigen parenteral verträglichen Verdünnungs- oder Lösungsmittel, zum Beispiel als Lösung in 1,3-Butandiol, sein. Zu den verträglichen Vehikeln und Lösungsmitteln, die verwendet

werden können, gehören Mannit, Wasser, Ringer-Lösung und isotonische Natriumchloridlösung. Außerdem werden üblicherweise sterile, nichtflüchtige Öle als Lösungsmittel oder Suspendiermedium verwendet. Zu diesem Zweck kann ein beliebiges mildes nichtflüchtiges Öl einschließlich synthetischer Mono- oder Diglyceride verwendet werden. Fettsäuren, wie Ölsäure und ihre Glyceridderivate sind bei der Herstellung von Injektionsmitteln verwendbar, wie es natürliche pharmazeutisch verträgliche Öle, wie Olivenöl oder Rizinusöl, insbesondere in ihren polyoxyethylierten Formen sind. Diese Öllösungen oder Suspensionen können auch einen langkettigen Alkohol oder einen ähnlichen Alkohol enthalten als Verdünnungs- oder Dispergiermittel.

Die genannten Formulierungsformen können auch Färbemittel, Konservierungsstoffe sowie geruchs- und geschmacksverbesserte Zusätze, zum Beispiel Pfefferminzöl und Eukalyptusöl und Süßmittel, zum Beispiel Saccharin, enthalten. Die Wirkstoffe der Formel (I) sollen in den aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen vorzugsweise in einer Konzentration von etwa 0,1 bis 99,5, vorzugsweise von etwa 0,5 bis 95 Gew.-% der Gesamtmischung vorhanden sein.

Die aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen können außer den Verbindungen auch weitere pharmazeutische Wirkstoffe enthalten. Die Herstellung der oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen erfolgt in üblicher Weise nach bekannten Methoden, zum Beispiel durch Mischen des oder der Wirkstoffe mit dem oder den Trägerstoffen.

Die genannten Zubereitungen können bei Mensch und Tier entweder oral, rektal, parenteral (intravenös, intramuskulär, subkutan), intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, lokal (Puder, Salbe, Tropfen) und zur Therapie angewendet werden. Als geeignete Zubereitung kommen Injektions-

lösungen, Lösungen und Suspensionen für die orale Therapie, Gele, Aufgussformulierungen, Emulsionen, Salben oder Tropfen in Frage. Zur lokalen Therapie können ophtalmologische und dermatologische Formulierungen, Silber- und andere Salze, Ohrentropfen, Augensalben, Puder oder Lösungen verwendet werden. Bei Tieren kann die Aufnahme auch über das Futter oder Trinkwasser in geeigneten Formulierungen erfolgen. Ferner können Gele, Pulver, Puder, Tabletten, Retard-Tabletten, Premixe, Konzentrate, Granulate, Pellets, Tabletten, Boli, Kapseln, Aerosole, Sprays, Inhalate bei Mensch und Tier angewendet werden. Ferner können die erfindungsgemäßen Verbindungen in andere Trägermaterialien wie zum Beispiel Kunststoffe, (Kunststoffketten zur lokalen Therapie), Kollagen oder Knochenzement eingearbeitet werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind die erfindungsgemäßen Verbindungen in einer Konzentration von 0,1 bis 99,5, bevorzugt von 0,5 bis 95, besonders bevorzugt von 20 bis 80 Gew.-% in einer Zubereitung eingebracht. Das heißt, die erfindungsgemäßen Verbindungen sind in den oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen, zum Beispiel Tabletten, Pillen, Granulaten und anderen, vorzugsweise in einer Konzentration von 0,1 bis 99,5 Gew.-% der Gesamtmischung vorhanden. Die Wirkstoffmenge, das heißt die Menge einer erfindungsgemäßen Verbindung, die mit den Trägermaterialien kombiniert wird, um eine einzige Dosierungsform zu erzeugen, wird in Abhängigkeit von dem zu behandelnden Wirt und der besonderen Verabreichungsart variieren können. Nach Besserung des Zustandes eines Wirts bzw. eines Patienten kann der Anteil der wirksamen Verbindung in der Zubereitung so geändert werden, dass eine Erhaltungsdosis vorliegt. Anschließend kann die Dosis oder Frequenz der Verabreichung oder beides als Funktion der Symptome auf eine Höhe verringert werden,

bei der der verbesserte Zustand beibehalten wird. Wenn die Symptome auf das gewünschte Niveau gelindert worden sind, sollte die Behandlung aufhören. Patienten können jedoch eine Behandlung mit Unterbrechung auf Langzeitbasis nach
5 beliebigem Wiederauftreten von Erkrankungssymptomen benötigen. Demgemäß ist der Anteil der Verbindungen, das heißt ihre Konzentration, in der Gesamtmischung der pharmazeutischen Zubereitung ebenso wie ihre Zusammensetzung oder Kombination variabel und kann vom Fachmann aufgrund seines
10 Fachwissens modifiziert und angepasst werden.

Dem Fachmann ist bekannt, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen mit einem Organismus, bevorzugt einem Menschen oder einem Tier, auf verschiedenen Wegen in Kontakt ge-
15 bracht werden können. Weiterhin ist dem Fachmann bekannt, dass insbesondere die pharmazeutischen Mittel in verschiedenen Dosierungen appliziert werden können. Die Applikation sollte hierbei so erfolgen, dass die virale Erkrankung möglichst effektiv bekämpft wird bzw. der Ausbruch einer sol-
20 chen Krankheit in einer prophylaktischen Gabe verhindert wird. Die Konzentration und die Art der Applikation kann vom Fachmann durch Routineversuche eruiert werden. Bevorzugte Applikationen der erfindungsgemäßen Verbindungen sind die orale Applikation in Form von Pulver, Tabletten, Saft,
25 Tropfen, Kapseln oder ähnlichem, die rektale Applikation in Form von Zäpfchen, Lösungen und ähnlichem, parenteral in Form von Injektionen, Infusionen und Lösungen, Inhalation von Dämpfen, Aerosolen und Stäuben und Pflastern sowie lokal in Form von Salben, Pflastern, Umschlägen, Spülungen
30 und ähnlichem. Bevorzugt erfolgt das In-Kontakt-Bringen der erfindungsgemäßen Verbindungen prophylaktisch oder therapeutisch. Bei einer prophylaktischen Gabe soll die Etablierung eines Tumors verhindert werden. Bei einem therapeutischen In-Kontakt-Bringen liegt bereits eine
35 Tumorerkrankung vor und die bereits im Körper befindlichen

Krebszellen sollen entweder abgetötet oder in ihrer Vermehrung gehemmt werden. Weitere hierfür bevorzugte Applikationsformen sind beispielsweise die subkutane, die sublinguale, die intravenöse, die intramuskuläre, die
5 intraperitoneale und/oder die topische.

Die Eignung der gewählten Applikationsformen wie auch der Dosis, des Applikationsschemas, der Adjuvanzwahl und dergleichen kann beispielsweise durch Entnahme von
10 Serum-Aliquoten aus dem Patienten oder bildgebenden Verfahren im Verlauf des Behandlungsprotokolls bestimmt werden. Alternativ und begleitend hierzu kann der Zustand der Leber, aber auch die Menge von T-Zellen oder anderen Zellen des Immunsystems, auf herkömmliche Weise begleitend
15 bestimmt werden, um einen Gesamtüberblick über die immunologische Konstitution des Patienten und insbesondere die Konstitution von stoffwechselwichtigen Organen, insbesondere der Leber, zu erhalten. Zusätzlich kann der klinische Zustand des Patienten auf die gewünschte Wirkung,
20 insbesondere die antitumorale Wirkung hin beobachtet werden. Da Tumorerkrankungen mit weiteren, beispielsweise bakteriellen oder fungiziden Infektionen assoziiert sein können, ist es auch möglich, den Verlauf dieser begleitenden Infektionen zusätzlich klinisch mit zu verfolgen.
25 Wenn eine unzureichende antitumorale Effektivität erzielt wird, kann der Patient mit erfindungsgemäßen Mitteln oder anderen bekannten Medikamenten modifiziert und weiterbehandelt werden, von denen eine Verbesserung der Gesamtkonstitution erwartet werden kann. Selbstverständlich
30 ist es auch möglich, die Träger oder Vehikeln des pharmazeutischen Mittels zu modifizieren oder den Verabreichungsweg zu variieren. Neben der oralen Aufnahme kann es dann zum Beispiel vorgesehen sein, dass Injektionen beispielsweise intramuskulär oder subkutan oder in die
35 Blutgefäße ein weiterer bevorzugter Weg für die thera-

peutische Verabreichung der erfindungsgemäßen Verbindungen sind. Zeitgleich kann auch die Zufuhr über Katheter oder chirurgische Schläuche angewendet werden.

- 5 Die Erfindung betrifft demgemäß auch die Verwendung der Verbindung zur Diagnose, Prophylaxe, Verminderung, Therapie, Verlaufskontrolle und/oder Nachbehandlung von mit Zellwachstum, -differenzierung und/oder -teilung im Zusammenhang stehenden Krankheiten.

10

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die mit Zellwachstum, -differenzierung und/oder -teilung im Zusammenhang stehende Krankheit ein Tumor. Besonders bevorzugt ist der Tumor ein solider Tumor und/oder eine Leukämie.

15

- In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Krebserkrankung oder der Tumor, die/der behandelt, prophylaktisch verhindert oder dessen Wiederauftreten verhindert wird, ausgewählt aus der Gruppe von Krebserkrankungen oder Tumorerkrankungen des Hals-Nasen-Ohren-Bereichs, der Lunge, des Mediastinums, des Gastrointestinaltraktes, des Urogenitalsystems, des gynäkologischen Systems, der Brust, des endokrinen Systems, der Haut, Knochen- und Weichteilsarkomen, Mesotheliomen, Melanomen, Neoplasmen des zentralen Nervensystems, Krebserkrankungen oder Tumorerkrankungen im Kindesalter, Lymphomen, Leukämien, paraneoplastischen Syndromen, Metastasen ohne bekannten Primärtumor (CUP-Syndrom), peritonealen Karzinomastosen, Immunsuppression-bezogenen Malignitäten und/oder Tumor-Metastasen.

30

- Insbesondere kann es sich bei den Tumoren um folgende Krebsarten handeln: Adenokarzinom der Brust, der Prostata und des Dickdarms; alle Formen von Lungenkrebs, der von den Bronchien ausgeht; Knochenmarkkrebs, das Melanom, das Hepatom, das Neuroblastom; das Papillom; das Apudom, das

35

Choristom, das Branchiom; das maligne Karzinoid-Syndrom; die Karzinoid-Herzerkrankung; das Karzinom (zum Beispiel Walker-Karzinom, Basalzellen-Karzinom, basosquamöses Karzinom, Brown-Pearce-Karzinom, duktales Karzinom, Ehrlich-Tumor, in situ-Karzinom, Krebs-2-Karzinom, Merkel-Zellen-Karzinom, Schleimkrebs, nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom, Haferzellen-Karzinom, papilläres Karzinom, szirrhöses Karzinom, bronchiolo-alveoläres Karzinom, Bronchiai-Karzinom, Plattenepithelkarzinom und Transitionalzell-Karzinom); histiocytische Funktionsstörung; Leukämie (zum Beispiel in Zusammenhang mit B-Zellen-Leukämie, Gemischt-Zellen-Leukämie, Nullzellen-Leukämie, T-Zellen-Leukämie, chronische T-Zellen-Leukämie, HTLV-II-assoziierte Leukämie, akut lymphozytische Leukämie, chronisch-lymphozythische Leukämie, Mastzell-Leukämie und myeloische Leukämie); maligne Histiocytose, Hodgkin-Krankheit, non-Hodgkin-Lymphom, solitärer Plasmazelltumor; Reticuloendotheliose, Chondroblastom; Chondrom, Chondrosarkom; Fibrom; Fibrosarkom; Riesenzell-Tumore; Histiocytom; Lipom; Liposarkom; Leukosarkom; Mesotheliom; Myxom; Myxosarkom; Osteom; Osteosarkom; Ewing-Sarkom; Synoviom; Adenofribrom; Adenolymphom; Karzinosarkom, Chordom, Craniopharyngiom, Dysgerminom, Hamartom; Mesenchymom; Mesonephrom, Myosarkom, Ameloblastom, Cementom; Odontom; Teratom; Thymom, Chorioblastom; Adenokarzinom, Adenom; Cholangiom; Cholesteatom; Cylindrom; Cystadenocarcinom, Cystadenom; Granulosazelltumor; Gynadroblastom; Hidradenom; Inselzelltumor; Leydig-Zelltumor; Papillom; Sertoli-Zell-Tumor, Thekazelltumor, Leiomyom; Leiomyosarkom; Myoblastom; Myom; Myosarkom; Rhabdomyom; Rhabdomyosarkom; Ependynom; Ganglioneurom, Gliom; Medulloblastom, Meningiom; Neurilemmom; Neuroblastom; Neuroepitheliom, Neurofibrom, Neurom, Paragangliom, nicht-chromaffines Paragangliom, Angiokeratom, angiolymphoide Hyperplasie mit Eosinophilie; sclerosierendes Angiom; Angiomatose; Glomangiom; Hemangio-

- endotheliom; Hemangiom; Hemangiopericytom, Hemangiosarkom; Lymphangiom, Lymphangiomyom, Lymphangiosarkom; Pinealom; Cystosarkom phyllodes; Hemangiosarkom; Lymphangiosarkom; Myxosarkom, Ovarialkarzinom; Sarkom (zum Beispiel
- 5 Ewing-Sarkom, experimentell, Kaposi-Sarkom und Mastzell-Sarkom); Neoplasmen (zum Beispiel Knochen-Neoplasmen, Brust-Neoplasmen, Neoplasmen des Verdauungssystems, colorektale Neoplasmen, Leber-Neoplasmen, Pankreas-Neoplasmen, Hirnanhang-Neoplasmen, Hoden-Neoplasmen,
- 10 plasmen, Orbita-Neoplasmen, Neoplasmen des Kopfes und Halses, des Zentralnervensystems, Neoplasmen des Hörorgans, des Beckens, des Atmungstrakts und des Urogenitaltrakts); Neurofibromatose und zervikale Plattenepitheldysplasie.
- 15 In einer weiter bevorzugten Ausführungsform ist die Krebserkrankung oder der Tumor, die/der behandelt, prophylaktisch verhindert oder dessen Wiederauftreten verhindert wird, ausgewählt aus der Gruppe von Krebserkrankungen oder Tumorerkrankungen, die Zellen umfassen, die das MUC1 in der
- 20 erfindungsgemäßen Definition umfassen, ausgewählt aus der Gruppe: Tumoren des Hals-Nasen-Ohren-Bereichs umfassend Tumoren der inneren Nase, der Nasennebenhöhlen, des Nasopharynx, der Lippen, der Mundhöhle, des Oropharynx, des Larynx, des Hypopharynx, des Ohres, der Speicheldrüsen und
- 25 Paragangliome, Tumoren der Lunge umfassend nicht-kleinzellige Bronchialkarzinome, kleinzellige Bronchialkarzinome, Tumoren des Mediastinums, Tumoren des Gastrointestinaltraktes umfassend Tumoren des Ösophagus, des Magens, des Pankreas, der Leber, der Gallenblase und der
- 30 Gallenwege, des Dünndarms, Kolon- und Rektumkarzinome und Analkarzinome, Urogenitaltumoren umfassend Tumoren der Nieren, der Harnleiter, der Blase, der Prostata, der Harnröhre, des Penis und der Hoden, gynäkologische Tumoren umfassend Tumoren des Zervix, der Vagina, der Vulva, Kor-
- 35 puskarzinom, maligne Trophoblastenerkrankung, Ovarial-

karzinom, Tumoren des Eileiters (Tuba Fallopii), Tumoren der Bauchhöhle, Mammakarzinome, Tumoren endokriner Organe umfassend Tumoren der Schilddrüse, der Nebenschilddrüse, der Nebennierenrinde, endokrine Pankreastumoren, Karzinoidtumoren und Karzinoidsyndrom, multiple endokrine Neoplasien, Knochen- und Weichteilsarkome, Mesotheliome, Hauttumoren, Melanome umfassend kutane und intraokulare Melanome, Tumoren des zentralen Nervensystems, Tumoren im Kindesalter umfassend Retinoblastom, Wilms Tumor, Neurofibromatose, Neuroblastom, Ewing-Sarkom Tumorfamilie, Rhabdomyosarkom, Lymphome umfassend Non-Hodgkin-Lymphome, kutane T-Zell-Lymphome, primäre Lymphome des zentralen Nervensystems, Morbus Hodgkin, Leukämien umfassend akute Leukämien, chronische myeloische und lymphatische Leukämien, Plasmazell-Neoplasmen, myelodysplastische Syndrome, paraneoplastische Syndrome, Metastasen ohne bekannten Primärtumor (CUP-Syndrom), peritoneale Karzinomastose, Immunsuppression-bezogene Malignität umfassend AIDS-bezogene Malignitäten wie Kaposi-Sarkom, AIDS-assoziierte Lymphome, AIDS-assoziierte Lymphome des zentralen Nervensystems, AIDS-assoziiierter Morbus Hodgkin und AIDS-assoziiierter anogenitale Tumoren, Transplantations-bezogene Malignitäten, metastasierte Tumoren umfassend Gehirnmetastasen, Lungenmetastasen, Lebermetastasen, Knochenmetastasen, pleurale und perikardiale Metastasen und maligne Aszites.

In einer weiter bevorzugten Ausführungsform ist die Krebserkrankung oder der Tumor, die/der behandelt, prophylaktisch verhindert oder dessen Wiederauftreten verhindert wird, ausgewählt aus der Gruppe umfassend Krebserkrankungen oder Tumorerkrankungen der Mammakarzinome, der Gastrointestinaltumore, einschließlich Kolonkarzinome, Magenkarzinome, Dickdarmkrebs und Dünndarmkrebs, der Pankreaskarzinome, der Ovarialkarzinome, Leberkarzinome, Lungenkrebs, Nierenzellkarzinome und Multiple Myelome.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung werden die Verbindung oder die pharmazeutische Zusammensetzung in einer Kombinationstherapie, insbesondere zur Behandlung von Tumoren, verwendet wird. Besonders bevorzugt ist hierbei, dass die Kombinationstherapie eine Chemotherapie, eine Zytostatikabehandlung und/oder eine Strahlentherapie umfasst.

10 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist die Kombinationstherapie eine adjuvante biologisch-spezifizierte Therapieform. Ganz besonders bevorzugt ist hierbei, dass diese Therapieform eine Immuntherapie ist. Weiterhin ist besonders bevorzugt, dass
15 die Kombinationstherapie eine Gentherapie ist.

Eine Gentherapie im Sinne der Erfindung ist eine Behandlungsform unter Einsatz von natürlichen oder rekombinant veränderten Nukleinsäure-Konstrukten, einzelner Gensequenzen oder ganzer Gen- bzw. Chromosomenabschnitte bzw. kodierter Transkriptbereiche, deren Derivate/Modifizierungen mit dem Ziel einer biologisch-basierten und selektiven Hemmung bzw. Revertierung der Krankheitssymptome und/oder deren kausalen Ursachen, wobei im speziellen Fall
20 darunter die Inhibition eines im Verlauf einer Krankheit überexprimierten Zielmoleküls auf Ebene der Nukleinsäuren, insbesondere auf der Transkriptebene, verstanden wird.

Dem Fachmann sind verschiedene Kombinationstherapien, insbesondere zur Behandlung von Tumoren, bekannt. Es kann zum Beispiel vorgesehen sein, dass innerhalb einer Kombinationstherapie eine Zytostatikabehandlung erfolgt oder beispielsweise eine Bestrahlung eines bestimmten Tumoreals, wobei diese Behandlung mit einer Gentherapie
30 kombiniert wird, wobei die erfindungsgemäße Verbindung als

Antikrebsmittel eingesetzt wird. Die erfindungsgemäßen Mittel können jedoch auch in Kombination mit anderen Antikrebsmitteln eingesetzt werden. Demgemäß kann ganz besonders bevorzugt die Verbindung zur Erhöhung der Sensitivität von Tumorzellen gegenüber Zytostatika und/oder Strahlen verwendet werden. Weiterhin ist bevorzugt, dass die Verbindung zur Hemmung der Viabilität, der Proliferationsrate von Zellen und/oder zur Induktion von Apoptose und eines Zellzyklus-Arrests verwendet wird

10

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen. So wird zum Beispiel 1-Methyl-4-phenylaminocarbonyl-oxy-prolin-ethylester durch Umsetzung von 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-ethylester und Phenylisocyanat in Acetonitril gewonnen.

15

Die erfindungsgemäße Verbindung 1-Methyl-4-phenylaminocarbonyl-oxy-prolin-isobutylester wird durch Umsetzung von 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester und Phenylisocyanat in Acetonitril erhalten.

20

4-Hydroxy-1-methyl-prolin wird durch Umsetzung von 4-Hydroxy-prolin in Formalin und Pd/C in einer Hydrierapparatur erhalten.

25

4-Hydroxy-1-methyl-prolinethylester wird durch die Umsetzung von 4-Hydroxy-prolinethylester und Formalin in Ethanol gewonnen.

4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester wird durch die Umsetzung von Formalin, Pd/C und Ethanol und 4-Hydroxy-prolin-isobutylester erhalten.

30

4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester wird durch die Umsetzung von Formalin und 4-Hydroxy-prolin-isobutylester im Gegenwart von Pd/C in Ethanol erhalten.

- 5 Die Derivate des 4-Hydroxy-prolins werden wie folgt gewonnen. cis-4-Hydroxy-L-prolinethylester wird gewonnen, indem 4-Hydroxy-Prolin in Ethanol mit HCl in Kontakt gebracht wird (siehe Beispiel).
- 10 Cis-4-Hydroxy-L-prolin-iso-butylester erhält man durch die Umsetzung von 4-Hydroxyprolin in Isobutanol, wobei die Reinigung analog zu 4-Hydroxy-prolinethylester erfolgt.

- 15 4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolinethylester-iodid wird erhalten, indem man Hydroxyprolinethylester in Acetonitril löst und mit Methyljodid und Triethylamin versetzt.

- 20 4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolin-iso-butyllester-iodid wird durch die Umsetzung von 4-Hydroxyprolin-Isobutylester und Methyljodid in Triethylamin und Acetonitril erhalten.

- 25 4-Hydroxy-1-alkyl-prolinester-bromid wird gewonnen, indem 4-Hydroxy-prolinester in Acetonitril suspendiert wird und mit dem entsprechenden Alkylbromid in Kontakt gebracht wird.

- 30 4-Hydroxy-1-cyclohexyl-prolin-isobutyllester entsteht durch das Lösen von Hydrobromid in Chloroform und im anschließenden Trocknen in Ammoniak-Gas.

4-Hydroxy-1-diphenylmethyl-prolin-isobutylester-hydrobromid wird analog zu 4-Hydroxy-1,1-dimethylprolin-iso-butylester-iodid erhalten.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung der Verbindungen zur Inhibierung von Kollagen IV und/oder Glutathion-S-Transferase (GST), wobei die Verbindungen solche sind, die oben für die Krebstherapie beschrieben sind.

5

Die GST-Inhibierung bzw. -Senkung und/oder die Kollagen IV-Inhibierung oder -Senkung in einer Zellkultur oder in einem Organismus hat zahlreiche Folgen. GST ist beispielsweise innerhalb von Organismen oder in vitro-Kulturen in der Lage, GSH an sich zu binden, um diese für den extrazellulären Transport vorzubereiten. Im Falle einer Tumorzelle bedeutet dies: GST bindet Onkogene bzw. andere Teile der Tumorzelle an GSH und schleust sie in den extrazellulären Bereich, was unter anderem zum Spreading-Effekt und somit zur Metastasierung führt. Durch die vermehrte Bindung von GSH steht dieses nicht mehr für andere Zellvorgänge zur Verfügung, was zur pathologischen Veränderung der Zelle führt. Durch Bindung von Tumorzellenfragmenten kommt es zusätzlich zu einer anderen Informationsverarbeitung innerhalb der Zelle und somit auch zu anderen Funktionsabläufen, wodurch die Transformation der Zelle initiiert bzw. gefördert wird. Durch die genannten Vorgänge wird außerdem die Apoptose gefördert.

Die erhöhte Toleranz gegenüber Karzinogenen bzw. die Hemmung der Karziogenese ist jedoch nicht die einzige Folge der mittels CHP-Derivate erfolgten Inhibierung. Weitere Folgereaktionen dieser Inhibierung sind beispielsweise die Therapie oder Linderung von Autoimmunkrankheiten, die Regeneration von Zellen nach der Chemotherapie bzw. parallel zur Chemotherapie, das Abmildern des Alterungsprozesses durch Ausschleusung von störenden Radikalen, die Behandlung von infektiösen Erkrankungen sowie von Stoffwechselerkrankungen, insbesondere der Leber, des Pankreas, des Darms und/oder des Magens.

Derartige Folgeprozesse der Inhibition von GST sind bevorzugt mit weiteren chemischen Folgeprozessen der Kollagen IV-Inhibition verbunden. Die Folgeprozesse der Kollagen IV-Inhibition ergeben sich insbesondere daraus, dass Tumorzellen über die Haupt-Kollagen-Domäne dieses Glykolproteins andocken und so die Zellen infiltrieren und penetrieren. Die Kollagen-Inhibition führt jedoch nicht nur zu einer Verminderung der Metastasierung und Infiltration und Invasionen bei Tumorerkrankungen, sondern sie zeigt therapeutische Wirkung bei allen entzündlichen Erkrankungen, bei denen es zum Umbau des normalen Gewebes im Bindegewebe kommt, wie zum Beispiel bei der Lungenfibrose, der Leberzirrhose, der Pankreasfibrose und/oder der Glomerulosklerose. Weiterhin zeigt die Kollagen IV-Inhibition einen positiven Einfluss bei der Sklerodermie/Marfan-Syndrom, bei vaskulären Erkrankungen, bei Stoffwechselerkrankungen, bei Autoimmunerkrankungen und bei neurologischen Erkrankungen, bei denen Nervengewebe in Bindegewebe umfunktioniert wird - den so genannten Gliosen, wie zum Beispiel auch bei Morbus Alzheimer. Selbstverständlich ist es insbesondere bei den letztgenannten Krankheiten möglich, neben der Inhibition von Kollagen IV durch CHP-Derivate parallele Medikamente zu geben, die eine Fibrose induzieren, wie zum Beispiel Bleomycin/Busulfan in Form einer supportiven/additiven Therapie.

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Inhibierung von Kollagen IV und/oder GST in einem Organismus und/oder in einer Probe, wobei der Organismus oder die Probe mit den genannten CHP-Derivaten in Kontakt gebracht werden. Das Verfahren kann beispielsweise in einer Kombinationstherapie eingesetzt werden, mittels derer Zellen in einem Organismus nach einer Chemotherapie regenerieren. Das Inkontakt-Bringen von CHP mit dem Organismus oder der zu

behandelnden Probe kann beispielsweise oral, subkutan, intravenös, intramuskulär, intraperitoneal, vaginal, rektal, topisch und/oder sublingual erfolgen.

- 5 Die Erfindung betrifft auch ein Anti-Kollagen IV und/oder ein Anti-GST-Mittel bzw. einen Kollagen IV- oder GST-Senker, der/die CHP-Derivate, gegebenenfalls zusammen mit üblichen Hilfsstoffen umfassen. Bei diesen üblichen Hilfsstoffen handelt es sich insbesondere um pharmazeutisch
- 10 akzeptable Träger, um Adjuvanzen und/oder Vehikel, wobei die Träger ausgewählt sind aus der Gruppe umfassend Füllmittel, Streckmittel, Bindemittel, Feuchthaltemittel, Sprengmittel, Lösungsverzögerer, Resorptionsbeschleuniger, Netzmittel, Adsorptionsmittel und/oder Gleitmittel. Der
- 15 Kollagen IV-Senker oder -Inhibitor bzw. der GST-Senker oder -Inhibitor, die CHP-Derivate umfassen, können als Gel, Puder, Pulver, Tablette, Retard-Tablette, Premix, Emulsion, Aufgussformulierung, Tropfen, Konzentrat, Infusionslösungen, Granulat, Sirup, Pellet, Boli, Kapsel, Aerosol,
- 20 Spray und/oder Inhalat zubereitet bzw. angewendet werden. Bevorzugt ist es, wenn CHP in einer Konzentration von 0,1 bis 99,5, bevorzugt von 0,5 bis 95 und besonders bevorzugt von 1 bis 80 Gew% in einer Zubereitung vorliegt. Besonders bevorzugt ist es, wenn die Zubereitung eine Infusionslösung
- 25 ist, in der CHP-Derivate im Bereich von 1 bis 2 Gew% vorliegt.

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung werden CHP-Derivate in Gesamtmengen von 0,05 bis 1000 mg pro kg

30 Körpergewicht, bevorzugt von 5 bis 450 mg pro kg Körpergewicht je 24 Stunden eingesetzt.

Der Kollagen IV-Inhibitor bzw. der GST-Inhibitor oder die CHP-Derivate alleine können so verwendet werden, dass 0,1

35 bis 100 g pro Tag und Patient verabreicht werden. Selbst-

verständlich kann es vorgesehen sein, die Tagesdosis zu splitten und die jeweils gesplittete Menge 2-, 4-, 6- oder 10-mal bzw. mehrfach mit dem Organismus in Kontakt zu bringen.

5

Die Inhibition von Kollagen IV und/oder GST, bevorzugt α GST, durch CHP-Derivate wird bevorzugt zur Behandlung von (i) Entzündungen, besonders bevorzugt von (ii) Autoimmunerkrankungen eingesetzt.

10

(i) Entzündungen im Sinne der Erfindung sind die vom Bindegewebe und den Blutgefäßen getragene Reaktion des Organismus auf einen äußeren oder innerlich ausgelösten Entzündungsreiz mit dem Zweck, diesen zu beseitigen oder zu inaktivieren und die reizbedingte Gewebsschädigung zu reparieren. Auslösend wirken mechanische Reize (Fremdkörper, Druck, Verletzung) und andere physikalische Faktoren (ionisierende Strahlen, UV-Licht, Wärme, Kälte), chemische Stoffe (Laugen, Säuren, Schwermetalle, bakterielle Toxine, Allergene und Immunkomplexe) sowie Erreger (Mikroorganismen, Würmer, Insekten) bzw. krankhafte Stoffwechselprodukte, entgleiste Enzyme, bösartige Tumoren. Das Geschehen beginnt mit einer kurzen Arteriolenverengung (durch Arenalinwirkung) mit Mangel durchblutung und Gewebsalteration, gefolgt von der Entwicklung der klassischen örtlichen Entzündungszeichen (Kardinalsymptome; nach GALEN und CELSUS), das heißt von Rötung (= Rubor; Gefäßerweiterung durch Histamin), Wärme (= Calor; durch örtliche Stoffwechselsteigerung), Schwellung (= Tumor; durch Austritt eiweißreicher Flüssigkeit aus den - unter anderem durch Histamin - veränderten Gefäßwänden, unterstützt durch die verlangsamte Blutzirkulation im Sinne der Prästase bis Stase), Schmerz (= Dolor; als Folge der erhöhten Gewebsspannung und schmerzauslösender Entzündungsprodukte, zum Beispiel Bradykinin) und Funktionsstörung (= Functio

35

laesa). Der Vorgang wird ergänzt durch Störung des Elektrolythaushaltes (Transmineralisation), Einwanderung neutrophiler Granulozyten und Monozyten durch die Gefäßwände (siehe auch Leukotaxis), letzteres mit dem Zweck, den Entzündungsreiz und geschädigte bis nekrotische Zellen zu beseitigen (Phagozytose); ferner wandern Lymphozyten-Effektorzellen ein, die zur Bildung spezifischer Antikörper gegen den Entzündungsreiz führen (Immunreaktion), sowie Eosinophile (in der Heilungsphase bzw. - sehr frühzeitig - bei allergisch-hyperergischem Geschehen). Durch die bei der Reaktion erfolgende Aktivierung des Komplementsystems werden Bruchstücke (C3a und C5a) dieses Systems frei, die - wie das Histamin und Bradykinin - als Mediatoren der Entzündung wirken, und zwar im Sinne der Anregung der Chemotaxis der zitierten Blutzellen; ferner wird die Blutgerinnung aktiviert. In der Folge tritt eine Schädigung (Dystrophie und Koagulationsnekrose) des zugeordneten Organparenchyms ein. Der Gesamtorganismus reagiert je nach Intensität und Art der Entzündung mit Fieber, Stress (siehe auch Adaptationssyndrom), Leukozytose und Veränderungen in der Zusammensetzung der Plasmaproteine (Akute-Phase-Reaktion), die zu einer beschleunigten Blutkörperchensenkungsreaktion führen. Bevorzugte Entzündungen im Sinne der Erfindung sind die eitrige, die exudative, die fibrinöse, die gangräneszierende, die granulomatöse, die hämorrhagische, die katarrhalische, die nekrotisierende, die proliferative oder produktive, die pseudomembranöse, die seröse, die spezifische und/oder die ulzeröse Entzündungen.

(ii) Autoimmunerkrankungen im Sinne der Erfindung sind Krankheiten, die ganz oder teilweise auf die Bildung von Autoantikörpern und deren schädigende Einwirkung auf den Gesamtorganismus bzw. Organsysteme, das heißt auf Autoaggression zurückzuführen sind. Eine Klassifikation ist als organspezifische, intermediäre und/oder systemische Auto-

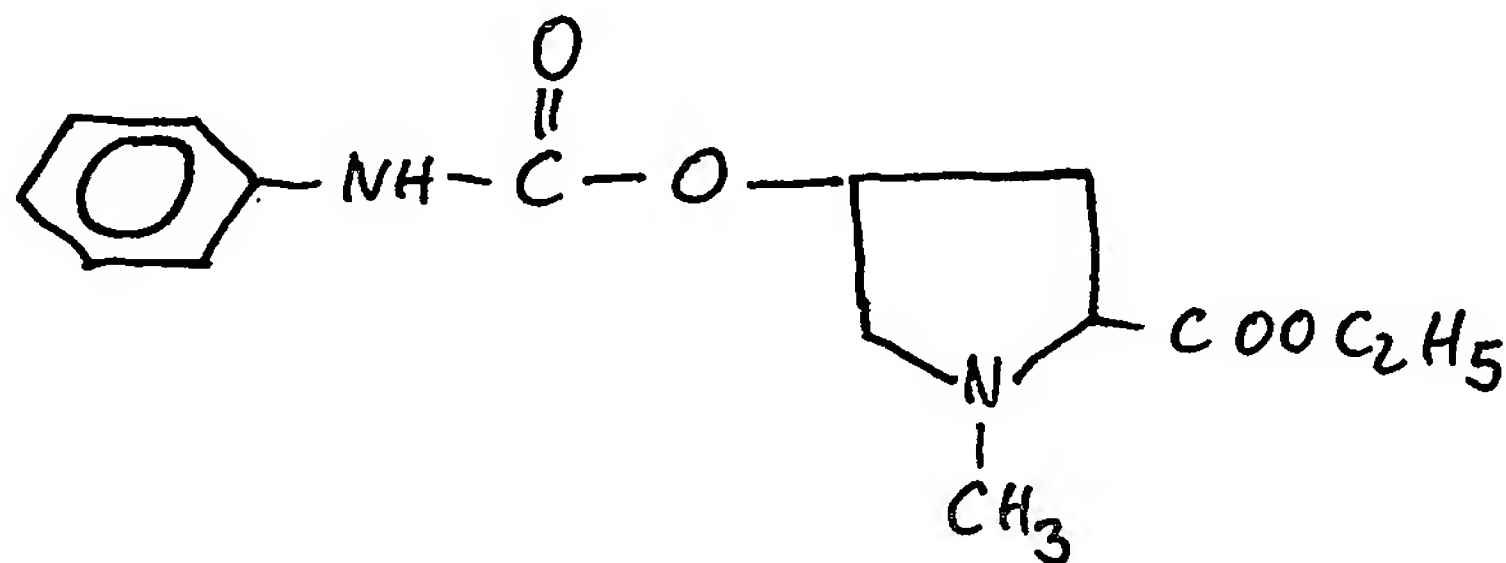
immunerkrankung möglich. Bevorzugte organspezifische Autoimmunerkrankungen sind HASHIMOTO Thyreoiditis, primäres Myxödem, Thyreotoxikose (BASEDOW Krankheit), perniziöse Anämie, ADDISON Krankheit, Myasthenia gravis und/oder juveniler Diabetes mellitus. Bevorzugte intermediäre Autoimmunkrankheiten sind GOODPASTURE Syndrom, autoimmune hämolytische Anämie, autoimmune Leukopenie, idiopathische Thrombozytopenie, Pemphigus vulgaris, sympathische Ophthalmie, primäre biliäre Zirrhose, Autoimmunhepatitis, Colitis ulcerosa und/oder SJÖGREN Syndrom. Bevorzugte systemische Autoimmunkrankheiten sind rheumatoide Arthritis, rheumatisches Fieber, systemischer Lupus erythematoses, Dermatomyositis/Polymyositis, progressive systemische Sklerose, WEGENER Granulomatose, Panarteriitis nodosa und/oder Hypersensitivitätsangiitis. Typische Autoimmunkrankheiten sind Thyreotoxikose, Schilddrüsen-bedingtes Myxödem, HASHIMOTO Thyreoiditis, generalisierte Endokrinopathie, perniziöse Anämie, chronische Gastritis Typ A, Krankheiten einzelner oder aller korpuskulären Elemente des Blutes (zum Beispiel autoimmunhämolytische Anämie, idiopath. Thrombozytopenie bzw. -pathie; idiopath. Leukopenie bzw. Agranulozytose), Pemphigus vulgaris und Pemphigoid, sympathische Ophthalmie und manche Uveitis-Formen, primär biliäre Leberzirrhose und chronisch aggressive Autoimmunhepatitis, Diabetes mellitus Typ I, CROHN Krankheit und Colitis ulcerosa, SJÖGREN Syndrom, ADDISON Krankheit, Lupus erythematoses disseminatus und als diskoidale Form dieser Krankheit, als Dermatomyositis und Sklerodermie, ~~rheumatoide~~ Arthritis (= primär-chronische Polyarthrititis), Antiglomerulusbasalmembran-Nephritis. Grundlage sind eine aggressive Immunreaktion infolge Zusammenbruchs der Immuntoleranz gegenüber Selbst-Derterminanten und eine Abnahme der Aktivität der T-Suppressorzellen (mit Lymphozytenmarker T 8) bzw. ein Übergewicht der T-Helferzellen (mit Lymphozytenmarker T 4) über die Suppressorzellen; ferner ist die Bildung von Autoantigenen

möglich, zum Beispiel durch Verbindung von Wirtsproteinen mit Haptenen (zum Beispiel Arzneimittel), durch ontogenetisches Gewebe, das sich erst nach Entwicklung der Selbsttoleranz entwickelt und für durch Änderungen der Konformation der Proteine demaskierte Proteinkomponenten im Zusammenhang zum Beispiel mit Infektion durch Viren oder Bakterien; ferner für im Zusammenhang mit Neoplasien entstandene neue Proteine. Weiterhin ist die Behandlung aller genannten Krebserkrankungen über die Inhibierung von Kollagen IV und/oder GST bevorzugt.

Im Folgenden soll die Erfindung anhand von Beispielen näher erläutert werden, ohne auf diese Beispiele beschränkt zu sein.

1. Hydroxy-prolin-Derivate

Herstellung von 1-Methyl-4-phenylaminocarbonyl-oxy-prolin-ethylester (A-1-23)



Ansatz:

430 mg (0,0025 Mol) 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-ethylester, 300 mg Phenylisocyanat, 30 ml Acetonitril

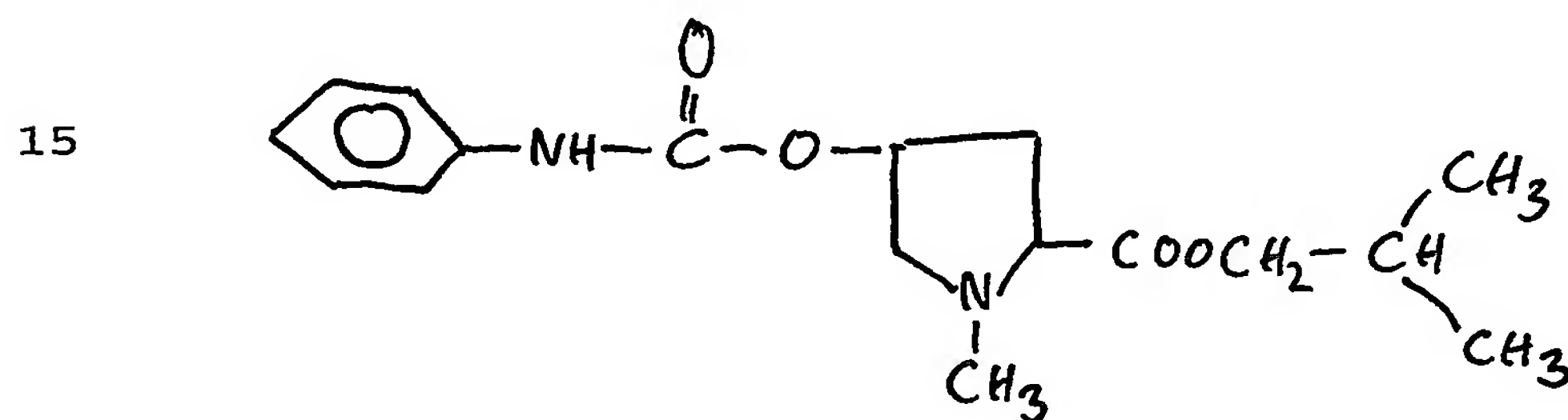
Synthese:

Die Ausgangsstoffe werden in Acetonitril gelöst und zirka 5 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in Aceton gelöst und mit Ether/Heptan ausgefällt.

Ausbeute: 200 mg (27 % d. Th.)

Fp: 178 - 80 °C

10 Herstellung von 1-Methyl-4-phenylaminocarbonyl-oxy-prolin-isobutylester (A-2-23)



20 Ansatz:

500 mg (0,0025 Mol) 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester, 300 mg Phenylisocyanat, 30 ml Acetonitril

25 Synthese:

analog A-1-23

Herstellung von 4-Hydroxy-1-methyl-prolin (A-0-21)

30

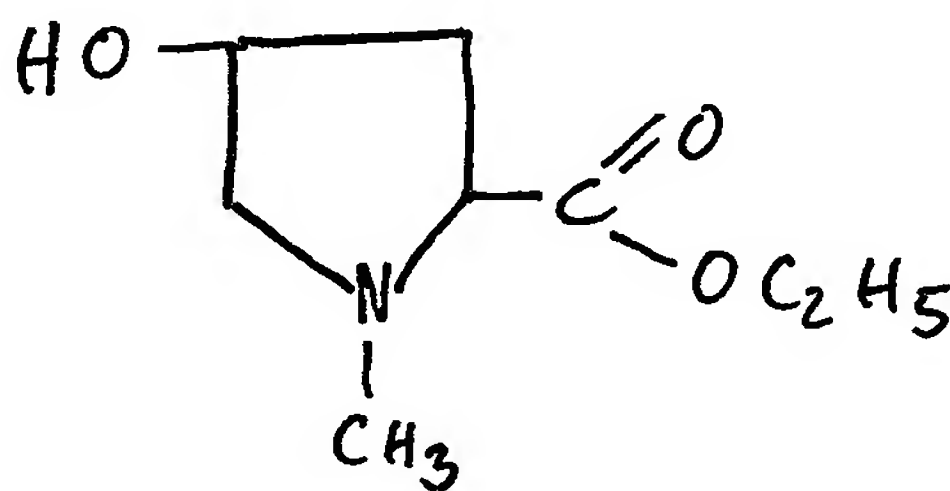


35

Synthese:

- 5 4 g 4-Hydroxy-prolin, 4 ml Formalin, 200 mg Pd/C und 250 ml Ethanol werden in einer Hydrierapparatur unter Wasserstoffatmosphäre (Normaldruck, Raumtemperatur) zirka 36 Stunden geschüttelt (reduktive Aminierung). Anschließend wird der Katalysator abfiltriert, das Filtrat fast bis zur Trockne
10 eingeeengt und das Reaktionsprodukt durch Zugabe von zirka 250 ml Aceton ausgefällt (diese Reinigungsoperation wird gegebenenfalls noch einmal wiederholt); das Produkt wird abgesaugt und im Vakuum getrocknet.
- 15 Ausbeute: 4,0 g (ca. 91 % d. Th.)
Fp: 190 °C

Herstellung von 4-Hydroxy-1-methyl-prolinethylester
(A-1-21)



Ansatz:

- 30 2 g 4-Hydroxy-prolinethylester, 2 g Formalin, 200 mg Pd/C, 150 ml Ethanol

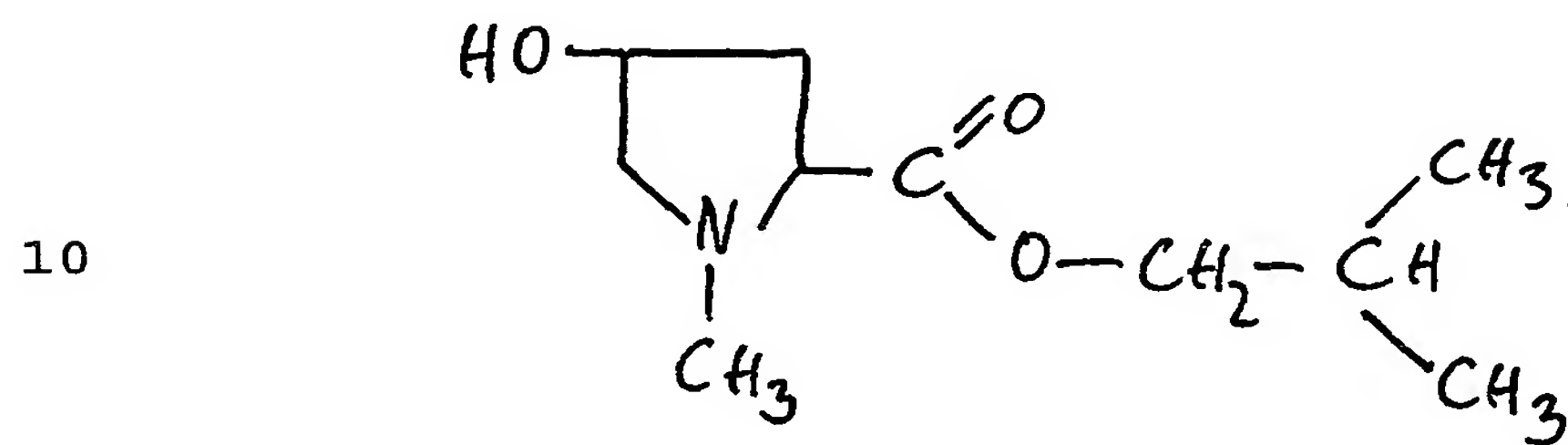
Synthese:

- 35 analog A-0-21

Ausbeute: 1,4 g (ca. 64 % d. Th.)

Fp: 204 °C

5 Herstellung von 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester
(A-2-21)



15 Ansatz:

2 g 4-Hydroxy-prolin-isobutylester, 2 g Formalin, 200 mg
Pd/C, 150 ml Ethanol

20 Synthese:

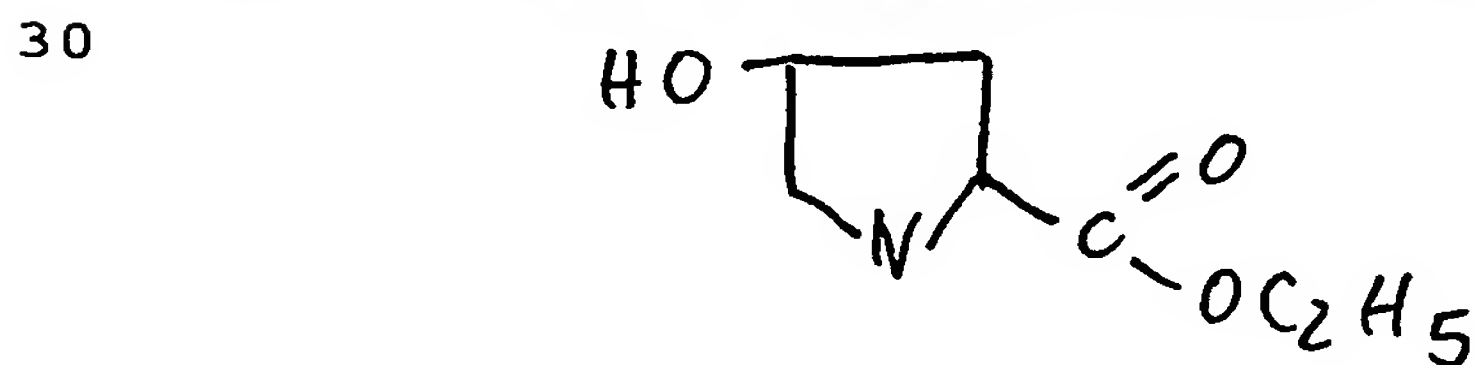
analog A-0-21

Ausbeute: 1,5 g (ca. 65 % d. Th.)

25 Fp: 220 °C

Derivate des 4-Hydroxoprolins

Herstellung von Cis-4-Hydroxy-L-prolinethylester (A-1)



35

Synthese:

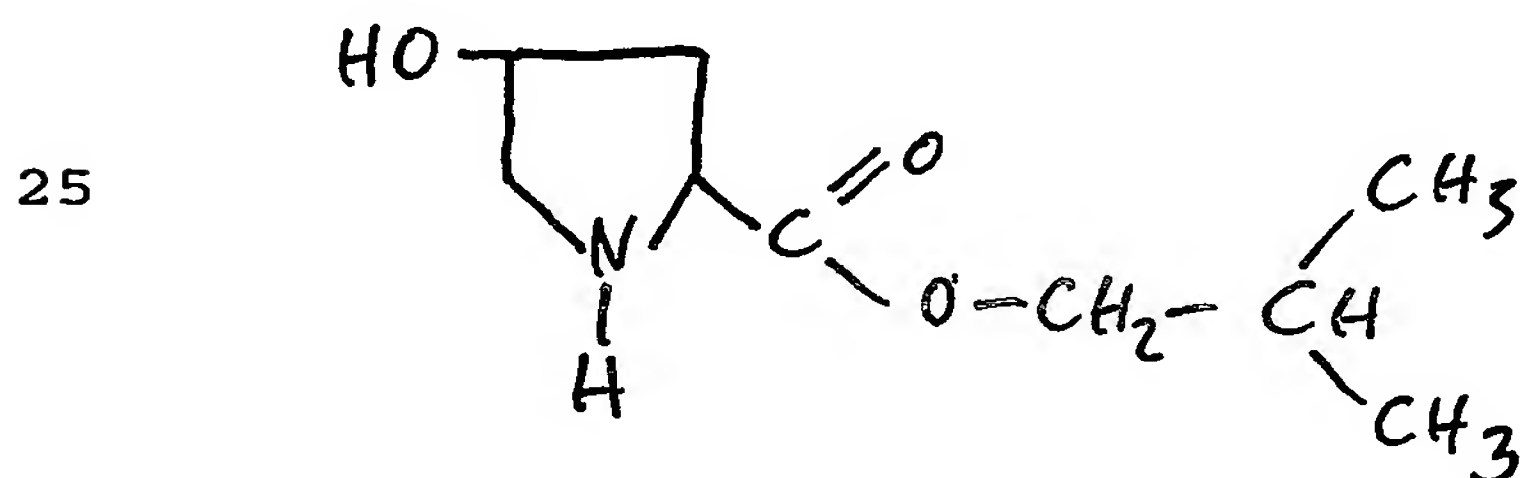
- 5 In eine Suspension von 20 g (0,15 Mol) 4-Hydroxy-prolin in
400 ml wasserfreiem Ethanol wird unter Rühren und Eis-
kühlung trockenes HCl-Gas eingeleitet (zirka 2 Stunden),
bis das 4-Hydroxy-prolin in Lösung gegangen ist, wobei täg-
lich (zirka 5 bis 10 min.) einmal weiteres HCl-Gas
10 eingeleitet wird.

Aufarbeitung/Reinigung: Nachdem der Alkohol im Vakuum ent-
fernt wurde, löst man das zurückbleibende Ester-hydro-
chlorid in Chloroform/Methanol (8 : 2), leitet (ca. 5 min)
15 trockenes NH₃-Gas ein, entfernt das Lösungsmittel im Vakuum
und behandelt das Produktgemisch (Prolinester + NH₄Cl) mit
warmem Chloroform. Nach dem Absaugen des NH₄Cl wird das
Filtrat im Vakuum zur Trockne eingeeengt.

Ausbeute: 18 g (75,5 % d. Th.)

20 Fp: 115 °C

Herstellung von Cis-4-Hydroxy-L-prolin-iso-butylester (A-2)



30

Ansatz:

10 g (0,075 Mol) 4-Hydroxyprolin, 250 ml Isobutanol
(trocken)

35

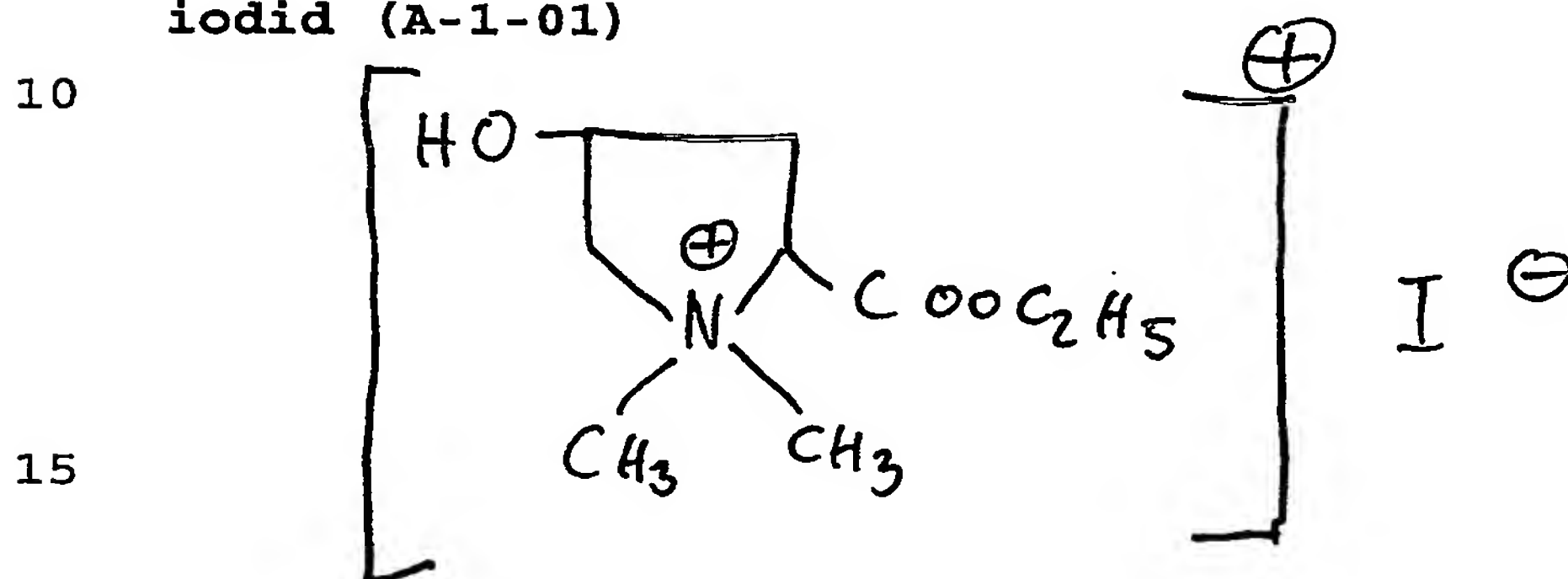
Synthese:

Aufbereitung/Reinigung: analog 4-Hydroxy-prolinethylester

5 Ausbeute: 11 g (78,6 % d. Th.)

Fp: 139 °C

Herstellung von 4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolinethylester-iodid (A-1-01)



Synthese:

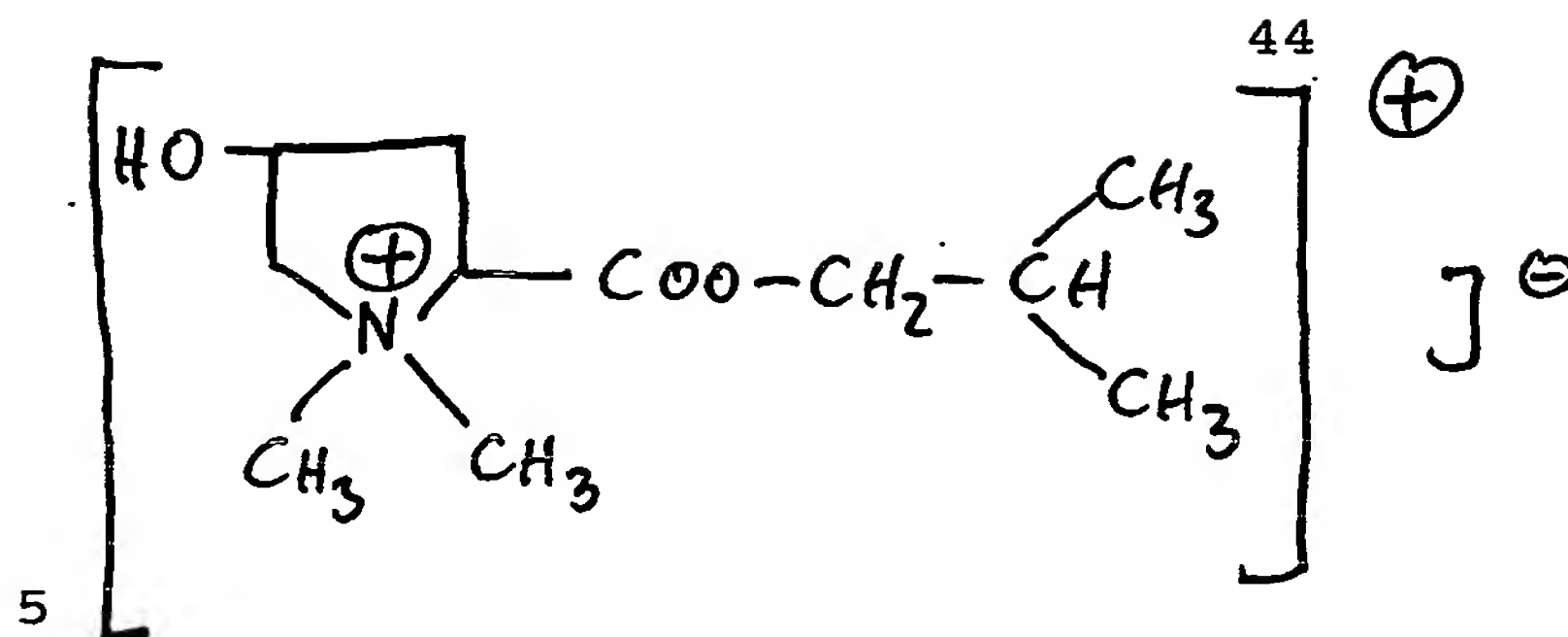
20 0,8 g Hydroxyprolinethylester werden in 30 ml Acetonitril gelöst und mit 0,6 g Methyliodid und 1 ml Triethylamin versetzt. Nach Stehenlassen über Nacht (bei Raumtemperatur) wird die Reaktionsmischung kurz erhitzt (dabei löst sich das Reaktionsprodukt vollständig im Acetonitril) und sofort

25 heiß filtriert (Abtrennung des Triethylammoniumiodids). Das Acetonitril wird im Vakuum entfernt und das fest-Kristallin zurückbleibende Endprodukt im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 600 g (44,4 % d. Th.)

30 Fp: 118 - 120 °C

Herstellung von 4-Hydroxy-1,1-prolin-iso-butylester-iodid (A-2-01)



Ansatz:

- 10 0,9 g 4-Hydroxy-prolin-isobutylester (A-2), 1 g Methyl-iodid, 1 ml Triethylamin, 40 ml Acetonitril

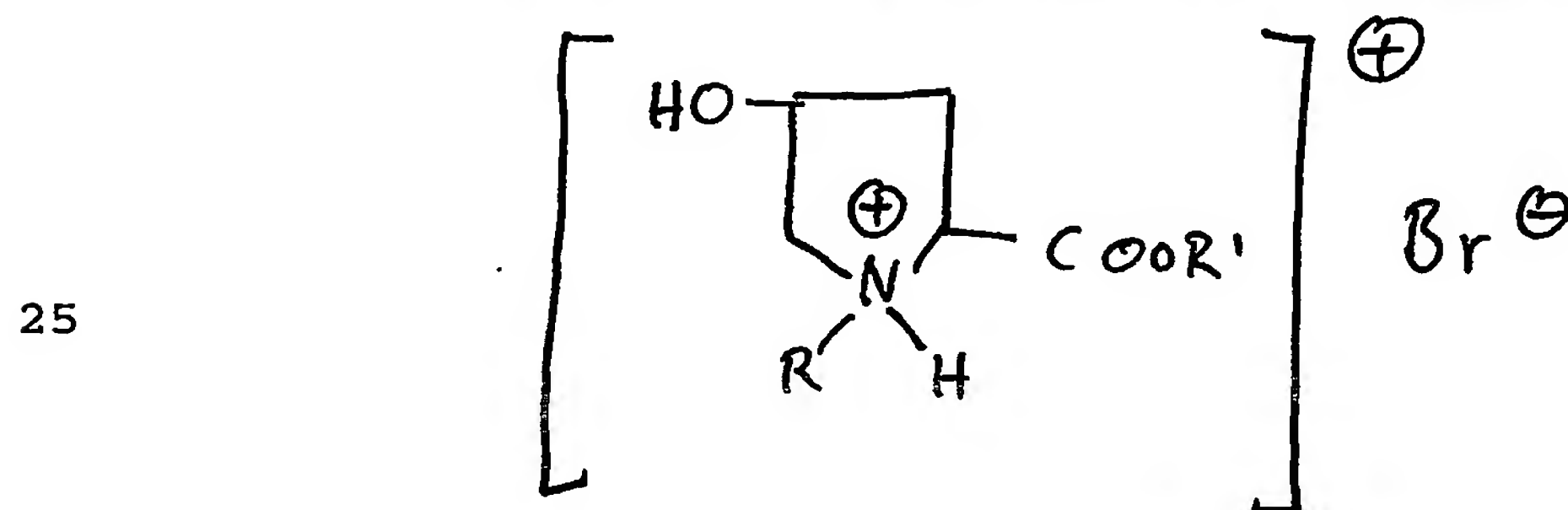
Synthese:

- 15 analog A-1-01

Ausbeute: 0,6 g (36,6 % d. Th.)

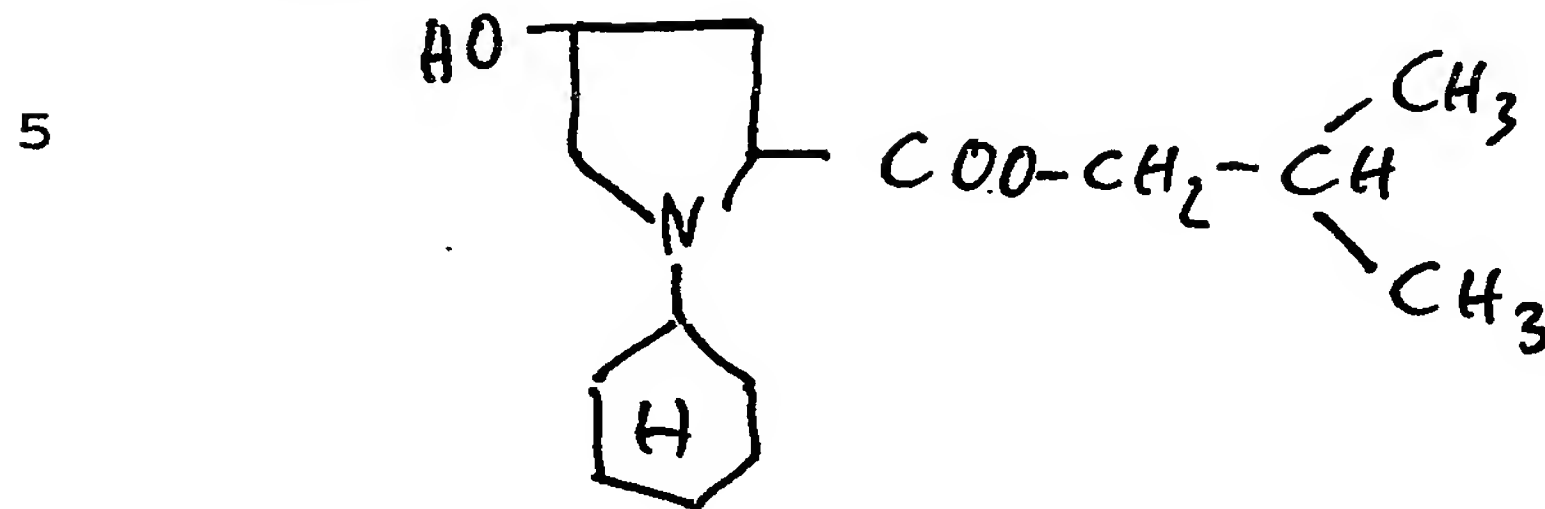
Fp: 180 °C

- 20 Herstellung von 4-Hydroxy-1-alkyl-prolinester-bromid



- 30 Allgemeine Vorschrift: 0,01 Mol des jeweiligen 4-Hydroxy-prolinesters werden in 40 ml Acetonitril suspendiert und nach Zugabe von 0,01 Mol des entsprechenden Alkylbromids 5 Stunden am Rückfluss gekocht; nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch in 400 ml Ether gegeben und über Nacht gekühlt (~ -20 °C). Es wird abgesaugt
- 35 und im Vakuum getrocknet.

Herstellung von 4-Hydroxy-1-cyclohexyl-prolin-isobutylester
(A-2-03)



Synthese:

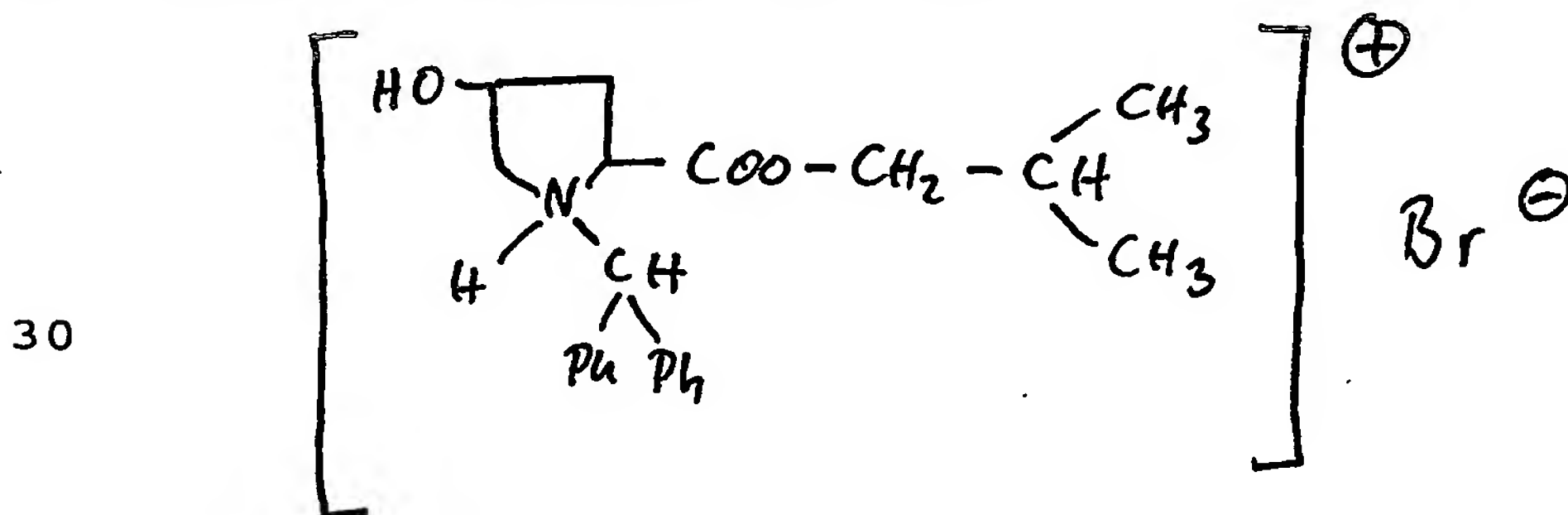
1,7 g des entsprechenden Hydrobromids werden in 150 ml
15 warmem Chloroform gelöst und anschließend zirka 3 min.
trockenes Ammoniak-Gas eingeleitet; nach Abkühlen auf Raum-
temperatur wird vom ausgefallenen Ammoniumbromid abgesaugt,
das Chloroform im Vakuum entfernt und schließlich das zu-
rückbleibende Rohprodukt aus Heptan umkristallisiert.

20

Ausbeute: 0,8 g (61,1 % d. Th.)

kein Fp: (pastös)

Herstellung von 4-Hydroxy-1-diphenylmethyl-prolin-isobutyl-
25. ester-hydrobromid (A-2-04)



Synthese: siehe A-2-01

35 Ausbeute: 2,8 g (64,5 % d. Th.)

Fp: 49 -147 °C

2. Effekte der synthetisierten Hydroxyprolin-Derivate auf die Tumorzellproliferation

5

Die erfindungsgemäßen Verbindungen wurden anhand von Pankreas-Tumorzelllinien MIYPaCa2 und BxPC3 getestet sowie an Brustkrebszelllinien MDA-MB-435 und BT20 sowie an Colon-Krebszelllinien Colo205 und HT29. Die Zellen wurden in 96-
 10 well-Mikrotiterplatten in Kulturmedium (RPMI-1640 mit 10 % fötalem Kälberserum und 4 mM Glutamin) gegeben; 10 000 Zellen pro Well. Die zu testenden erfindungsgemäßen Komponenten wurden entsprechend dem bekannten Vorgehen in den Mikrotiterplatten verdünnt und für 4 Tage unter Zellkultur-
 15 bedingungen inkubiert (37 °C, 5 % CO₂).

Nach der Inkubation wurde die Proliferation mit einem EZ4U Kit von Biomedica (Wien, Österreich), der auf Tetrazolium basiert, getestet. Die optische Dichte (OD) der einzelnen
 20 Wells wurde mit Hilfe eines Elisa-Readers bestimmt, wobei das erhaltene Kontrollmedium auf 100 % gesetzt wurde (OD_{490nm} = 0,5 bis 1,5). Die Werte in Tabelle 1 sind in % angegeben und zeigen die Inhibition der zellulären Proliferation, die Konzentration von 400 µg/ml (höherer Wert)
 25 und 200 µg/ml (niedriger Wert).

Tabelle 1

	A0.21	A1.21	A1.23	A2.21	A2.23	CHP
MIA-PaCa2	22,8 21,1	38,8 7,4	8,3 16,0	23,9 4,5	0,3 14,2	51,3 34,5
Colo205	16,3 21,1	32,7 23,7	7,3 17,2	10,0 14,1	14,1 19,2	78,2 60,0
BxPC3	16,2 21,9	13,4 25,0	0 17,8	4,9 18,2	2,1 15,4	44,5 27,8

MDA-	23,2	53,5	4,5	3,1	8,6	39,2
MB435	26,9	15,6	8,7	4,5	5,5	19,9
BT20	14,9	80,1	1,3	3,9	0	10,6
	18,3	22,2	4,4	5,2	0	6,5
HT29	4,7	0,5	1,9	1,3	-5,3	15,7
	4,8	7,3	8,5	4,1	-5,0	1,7

CHP hat die höchste Aktivität ($40 \pm 10,1$ % Inhibition; Mittelwert \pm SEM für alle 6 Zelllinien bei $400 \mu\text{g/ml}$, gefolgt von A1.21 ($36,5 \pm 11,4$) und A0.21 ($16,3 \pm 2,7$) und
 5 A1.23, A2.21, A2.23 mit Aktivitäten geringer als 8 %. A1.21 hat ein Spektrum, welches von CHP verschieden ist und hat eine viel geringere Aktivität bei der niedrigen Konzentration verglichen mit CHP.

10 Überraschenderweise zeigte N-Methyl-Cis-Hydroxy-Prolin-Ethyl-Ester eine höhere Wirksamkeit für bestimmte Zelllinien wie MDA-MB435 und BT20, bei denen es sich in beiden Fällen um Brustkrebs-Zelllinien handelt. In weiteren Versuchen wurden Substanzen in Wasser gelöst und in ihrer
 15 Wirkung auf Colon-Adenokarzinomzelllinien Colo205 und Pankreas-Adenokarzinomzelllinien BxPC3 als Targets getestet. Die erhaltenen Resultate in IC 50 Konzentrationen in $\mu\text{g/ml}$ werden in Tabelle 2 dargestellt.

20 Tabelle 2

Substanzen, IC50-Colo205, IC50-BxPC3

Substanz	IC50-Colo205	IC50-BxPC3
A-1	50	5
A1-01	>> 400	70
A2	18	15
A2-01	> 400	50
A2-03	50	50

A2-04	6.2	12
CHP	90	400

Überraschend wurde gefunden, dass Cis-4-Hydroxy-L-Prolin-Ethyl-Ester (A1), Cis-4-Hydroxy-L-prolin-isobutylester (A2), Cis-4-Hydroxy-1-cyclohexyl-prolin-isobutylester (A-2-03) und 4-Hydroxy-1-diphenylmethyl-prolin-isobutylester-hydrobromid (A-2-04) eine mehrfach höhere Wirksamkeit gegen die spezifisch getesteten Zelllinien haben als die Vergleichssubstanz CHP. Insbesondere zeigte Cis-4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolinethylester-iodid (A-1-01) eine spezifisch höhere Wirksamkeit gegen die Pankreas-Adenokarzinom-Zelllinien (BX PC3) als Cis-4-Hydroxy-L-prolin.

Die Bestimmung des IC_{50} (die Konzentration des Wirkstoffes, die benötigt wird, um eine 50 %-Hemmung zu erzielen) ist ein relevanter Parameter zur Messung der pharmakologischen Wirksamkeit eines Wirkstoffes. Die Anwendung der Substanzen Cis-4-Hydroxy-L-prolin-ethylester, Cis-4-Hydroxy-L-prolin-isobutylester, Cis-4-Hydroxy-1-diphenylmethyl-prolin-isobutylester-hydrobromid und Cis-4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolinethylester-iodid könnte große therapeutische Vorteile gegenüber anderen Substanzen wie Cis-4-Hydroxy-L-prolin und/oder Cis-4-Hydroxy-1-methylprolin haben.

In diesem Fall werden die benötigten therapeutischen Dosierungen viel geringer sein, dementsprechend könnten zum Beispiel pharmazeutische orale Formulierungen für einmal am Tag (geringe Dosis und einmal am Tag) anstatt von mehrmaliger täglicher Dosierung möglich sein. Davon hängen die Lebensqualität der Patienten, die Therapiekosten und die Patienten-Compliance ab.

Ausgehend von den Ergebnissen zur Bestimmung der IC_{50} (die Konzentration des Wirkstoffes, die benötigt wird, um eine

- 50%-ige Hemmung zu erzielen, konnte gezeigt werden, dass die Anwendung unter Anwendung der folgenden Substanzen Cis-4-Hydroxy-L-prolinethylester, Cis-4-Hydroxy-L-prolin-isobutylester, Cis-4-Hydroxy-1-diphenylmethyl-prolin-isobutylester-hydrobromid und Cis-4-Hydroxy-1,1-dimethylester-iodid große therapeutische Vorteile gegenüber anderen Substanzen wie Cis-4-hydroxy-L-prolin und/oder Cis-4-Hydroxy-1-methylprolin haben.
- 10 Besonders überraschend war es, dass gezeigt werden konnte, dass die Kombination von Cis-4-Hydroxy-L-prolin und Cis-4-Hydroxy-1-methyl-L-prolin antagonistische Wirkung auf die spezifischen Zelllinien Colo 205, SW 620 und T47D hat, wobei es sich bei den ersteren um Colon-Krebszelllinien und
- 15 bei dem letzteren um eine Brust-Krebszelllinie handelt. Ein Proliferationstest wurde - wie beschrieben - mit einer Anfangsverdünnung von 400 $\mu\text{g/ml}$ durchgeführt, entweder allein oder in Kombination mit 400, 200 oder 100 μg CHP. Die verwendeten Zelllinien sind in Tabelle 3 wiedergegeben. Die
- 20 Spalte "Con" zeigt die %-Inhibition der Proliferation (Minuszeichen) durch die verschiedenen Konzentrationen von A0.21. Die Resultate zeigen im Allgemeinen, dass CHP den anti-proliferativen Effekt von A0.21 ins Gegenteil verkehrt. In vielen Fällen wird die Proliferation erhöht bzw.
- 25 die mit Einzelsubstanzen erzielte Inhibition ist mit Kombinationsmitteln geringer. Der Effekt von CHP allein ist auf der linken Seite der Tabelle gezeigt unter der jeweiligen Zelllinienangabe für die höchste Konzentration von CHP (400 $\mu\text{g/ml}$). Die Werte in Tabelle 3 zeigen, dass A0.21
- 30 und CHP einen antagonistischen Effekt unter den genannten Bedingungen in den relevanten und wichtigen Konzentrationen haben.

Tabelle 3

Kombination von CHP mit A0.21 (4-Hydroxy-1-Methyl-prolin)

	con	CHP400	CHP200	CHP100	(A021)
Colo 205	-8,2	-9,7	-8,0	-4,8	(400)
	-4,0	-2,3	+2,7	+10,5	(200)
(-46 %)	-3,5	-0,7	+6,7	+16,6	(100)
T47D	-0,4	+9,6	+11,2	-2,9	(400)
	-1,2	+35,6	+31,3	+25,1	(200)
(-17,4 %)	-1,8	+25,2	+37,5	+23,6	(100)
SW620	-5,2	-1,4	+17,5	-10,9	(400)
	-6,3	+13,9	+34,1	+3,8	(200)
(-14 %)	-5,8	+12,2	+17,3	+18,6	(100)

- 5 Weiterhin wurden (R)-(+)- α,α -Diphenyl-2-pyrrolidinemethanol und (S)-(-)- α,α -Diphenyl-2-pyrrolidinemethanol getestet. Die Tabelle 4 zeigt die Werte der beiden Enantiomeren. Die Resultate sind angegeben in IC50 ($\mu\text{g/ml}$)

10 Tabelle 4

Diphenyl-2-pyrrolidinemethanol

Zelllinien	R-Enantiomer 231,01	S-Enantiomer 231,02
T47D Brustkrebs	130	190
Colo205 Colonkrebs	45	45
BxPC3 Pankreaskrebs	60	50
Panc-1 Pankreaskrebs	80	55
MIAPaCa2 Pankreaskrebs	50	50

- 15 Weiterhin wurden Versuche an den erfindungsgemäßen Verbindungen durchgeführt, die im Folgenden anhand von cis-4-Hydroxy-L-Prolin erläutert werden sollen.

Cis-4-Hydroxy-L-Prolin wurde Ratten über einen Zeitraum von 28 Tagen wiederholt oral gegeben. In Serum- und Urin-Proben wurde cis-4-Hydroxy-L-Prolin mittels der LC/MS-Technik analysiert.

Es wurde festgestellt, dass der Level von cis-4-Hydroxy-L-Prolin im Serum oder im Urin nach den wiederholten Gaben relativ schnell sank. Die mit der LC/MS-Technik bestimmte Verringerung des Levels von cis-4-Hydroxy-L-Prolin war verbunden mit einem Nachweis von Isomeren und Metaboliten des cis-4-Hydroxy-L-Prolins in den untersuchten Proben.

Überraschenderweise konnten folgende Biotransformationen des cis-4-Hydroxy-L-Prolins detektiert werden:

cis-4-Hydroxy-L-Prolin \rightleftharpoons trans-4-Hydroxy-L-Prolin

cis-4-Hydroxy-L-Prolin \rightleftharpoons trans-4-Hydroxy-D-Prolin

cis-4-Hydroxy-L-Prolin \rightleftharpoons trans-3-Hydroxy-D-Prolin

cis-4-Hydroxy-L-Prolin \rightleftharpoons D-Prolin

Diese Biotransformation wurde durch CHP-Isomerasen und/oder CHP-Epimerasen katalysiert, die bisher nicht bekannt waren.

Die Entstehung von trans-4-Hydroxy-L-Prolin oder anderen Produkten der Biotransformation ist nachteilig, da diese oft nicht pharmakologisch aktiv sind.

Durch spezifische Inhibitoren der CHP-Isomerasen und/oder CHP CHP-Epimerasen kann die Biotransformation bzw. die Umwandlung von cis-4-Hydroxy-L-Prolin in trans-4-Hydroxy-L-

Prolin, trans-4-Hydroxy-D-Prolin, trans-3-Hydroxy-D-Prolin oder allgemein in D-Prolin verhindert werden, wodurch die Konzentration von cis-4-Hydroxy-L-Prolin im Organismus auf einem hohen Niveau bleibt.

5

Sofern im Zusammenhang mit einer oralen oder einer anderen Gabe von cis-4-Hydroxy-L-Prolin oder dessen Derivaten zeitgleich oder zeitversetzt auch CHP-Isomerase-Inhibitoren und/oder CHP-CHP-Epimerase-Inhibitoren gegeben werden, kann

10

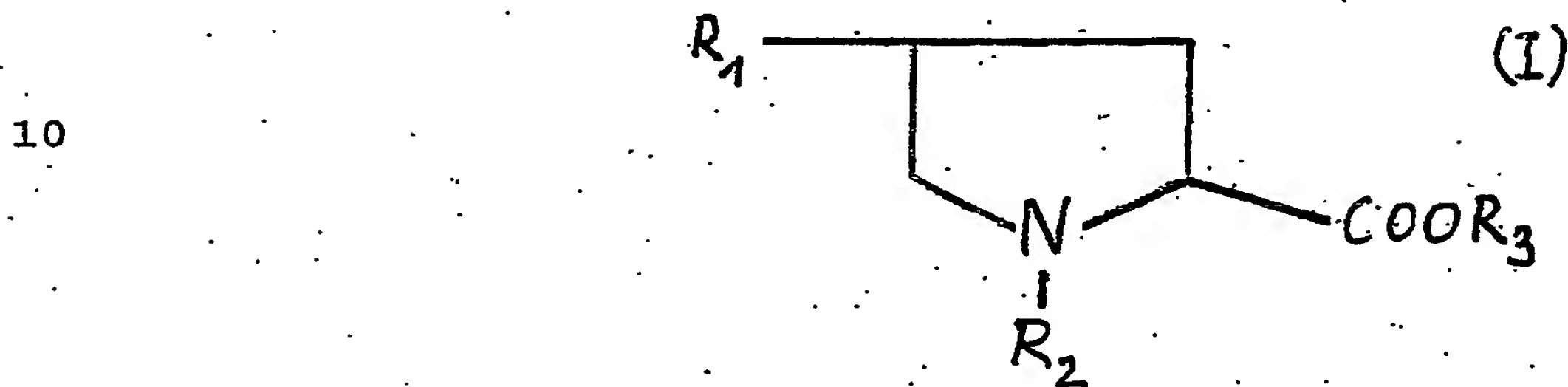
die Dosierung von cis-4-Hydroxy-L-Prolin oder dessen Derivaten geringer sein, da ein Verlust durch Biotransformation - das heißt durch Isomerisierung und Epimerisierung - im Organismus vermieden wird.

15

Patentansprüche

5

1. Verbindung der allgemeinen Formel (I),



15

, wobei

R₁ eine Hydroxy-, eine Aryl- oder eine Amino-
säure-Gruppe ist,

20

R₂ eine Wasserstoff-, eine Alkyl (C₁ - C₄)-, eine
substituierte Alkyl (C₁ - C₄)-Gruppe, eine
Dialkyl (C₁ - C₄)-, eine Cyclohexyl-, eine
Phenyl- oder Diphenyl-Gruppe ist,

R₃ eine Alkyl (C₂ - C₅)-Gruppe ist,

und/oder deren Salze,

mit der Maßgabe, dass, wenn R₁ eine Hydroxy-Gruppe

25

ist, R₂ von einer Methyl-Gruppe verschieden ist.

2. Verbindung nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet, dass

30

R₁ eine Hydroxy-, eine Phenylamino- oder eine Amino-
säure-Gruppe ist,

R₂ eine Wasserstoff-, eine Methyl, eine Dimethyl-, eine
Cyclohexyl- oder eine Diphenylmethyl-Gruppe ist,

R₃ eine Ethyl-, eine Isobutyl- und/oder eine Wasser-
stoff-Gruppe ist.

35

3. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Salze Jodide, Bromide und/oder Chloride der Ver-
bindungen sind.
- 5 4. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Phenylamino-Gruppe modifizierte Aminogruppen um-
fasst, insbesondere Phenylamino-Carbonyloxy-Gruppen.
- 10 5. Verbindung nach einem der vorangehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend
4-Hydroxyprolinethylester, 4-Hydroxy-1,1-dimethyl-
15 prolinethylester-Jodid, 4-Hydroxyprolin-isobutyl-ester,
4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolinisobutylester-Jodid, 4-Hy-
droxy-1-cyclohexylprolin-isobutylester, 4-Hydroxy-1-di-
phenylmethyl-prolin-isobutylester-hydrobromid, 4-Hydro-
xy-1-methyl-prolin, 4-Hydroxy-1-methyl-prolinethyl-
20 ester, 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester, 1-Me-
thyl-4-phenylamino-carbonyl-oxy-prolin und/oder 1-Me-
thyl-4-phenylamino-carbonyloxy-prolin-isobutylester.
- 25 6. Pharmazeutisches Mittel umfassend eine Verbindung gemäß
einem der vorhergehenden Ansprüche, gegebenenfalls zu-
sammen mit üblichen Hilfsstoffen, bevorzugt pharma-
zeutisch akzeptablen Trägern, Adjuvanzen und/oder
Vehikeln.
- 30 7. Pharmazeutisches Mittel nach dem vorhergehenden An-
spruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Träger ausgewählt sind aus der Gruppe umfassend
Füllmittel, Streckmittel, Bindemittel, Feuchthalte-
35 mittel, Sprengmittel, Lösungsverzögerer, Resorptions-

beschleuniger, Netzmittel, Adsorptionsmittel und/oder Gleitmittel.

- 5 8. Pharmazeutisches Mittel nach einem der Ansprüche 6 oder 7,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Träger Liposomen, Siosomen und/oder Niosomen sind.

- 10 9. Pharmazeutisches Mittel nach einem der Ansprüche 6 bis 8,
dadurch gekennzeichnet, dass
es zusätzlich ein Chemotherapeutikum umfasst.

- 15 10. Pharmazeutisches Mittel nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
das Chemotherapeutikum ausgewählt ist aus der Gruppe
umfassend Oxoplatine, cis-Oxoplatine, Taxole, Gemcita-
20 bine, Vinorelbine, Paclitaxel, Cyclosporin und/oder
eine Kombination dieser.

- 25 11. Pharmazeutisches Mittel nach einem der Ansprüche 6 bis 10,
dadurch gekennzeichnet, dass
es weiter ein oder mehrere zusätzliche Mittel aus der
Gruppe antiviraler, antifungizider, antibakterieller
und/oder immunstimulatorischer Mittel umfasst.

- 30 12. Verwendung der Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 und/oder der pharmazeutischen Mittel gemäß einem der Ansprüche 6 bis 11 zur Herstellung eines Arznei-
mittels zur Diagnose, Prophylaxe, Verlaufskontrolle,
Therapie und/oder Nachbehandlung von mit Zellwachstum,
-differenzierung und/oder -teilung im Zusammenhang
35 stehenden Krankheiten.

13. Verwendung von 4-Hydroxyprolinethylester, 4-Hydroxy-
1,1-dimethyl-prolinethylester-Jodid, 4-Hydroxyprolin-
isobutyl-ester, 4-Hydroxy-1,1-dimethyl-
5 prolinisobutylester-Jodid, 4-Hydroxy-1-cyclo-
hexylprolin-isobutylester, 4-Hydroxy-1-diphenylmethyl-
prolin-isobutylester-hydrobromid, 4-Hydroxy-1-methyl-
prolin, 4-Hydroxy-1-methyl-prolinethylester, 4-Hydroxy-
1-methyl-prolin-isobutylester, 1-Methyl-4-phenylamino-
10 carbonyl-oxy-prolin, 1-Methyl-4-phenylamino-
carbonyloxy-prolin-isobutylester, (R)-(+)- α,α -Diphenyl-
2-pyrrolidinemethanol und/oder (S)-(-)- α,α -Diphenyl-2-
pyrrolidinemethanol und/oder deren Derivaten,
Metaboliten, Enantiomeren und/oder Isomeren zur
15 Diagnose, Prophylaxe, Verlaufskontrolle, Therapie
und/oder Nachbehandlung von mit Zellwachstum, -
differenzierung und/oder -teilung im Zusammenhang
stehenden Krankheiten.
- 20 14. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Krankheit ein Tumor ist.
- 25 15. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Tumorerkrankungen ausgewählt sind aus der Gruppe
neoplastischer Tumoren, entzündlicher Tumoren, Abszes-
se, Ergüsse und/oder Ödeme.
- 30 16. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
der Tumor ein solider Tumor oder eine Leukämie ist.
- 35 17. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass

der solide Tumor ein Tumor des Urogenitaltraktes und/oder des Gastrointestinaltraktes ist.

18. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 17,
5 dadurch gekennzeichnet, dass
der Tumor ein Kolonkarzinom, ein Magenkarzinom, ein Pankreaskarzinom, ein Dünndarmkrebs, ein Ovarialkarzinom, ein Zervikalkarzinom, ein Lungenkrebs, ein Prostatakrebs, ein Mammakarzinom, ein Nierenzellkarzinom, ein
10 Hirntumor, ein Kopf-Halstumor, ein Leberkarzinom und/oder eine Metastase dieser Tumoren ist.
19. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 18,
dadurch gekennzeichnet, dass
15 der solide Tumor ein Mamma-, Bronchial-, Kolorektal- und/oder Prostatakarzinom und/oder eine Metastase dieser Tumoren ist.
20. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 19,
20 dadurch gekennzeichnet, dass
der Tumor des Urogenitaltraktes ein Harnblasenkarzinom und/oder eine Metastase dieser Tumoren ist.
21. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 20,
25 dadurch gekennzeichnet, dass
die Verlaufskontrolle eine Überwachung der Wirksamkeit einer Antitumorbehandlung ist.
22. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 21,
30 dadurch gekennzeichnet, dass
mindestens eine Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 und/oder ein pharmazeutisches Mittel gemäß einem der Ansprüche 6 bis 11 zur Prophylaxe, Prävention, Diagnose, Verminderung, Therapie, Verlaufskontrolle
35 und/oder Nachbehandlung einer Metastasierung, einer

Invasion, einer Infiltration, eines Tumorwachstums und/oder einer Angiogenese eingesetzt werden.

23. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 22,
5 dadurch gekennzeichnet, dass
die Verlaufskontrolle eine Überwachung der Wirksamkeit einer Antitumorbehandlung ist.
24. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 23,
10 dadurch gekennzeichnet, dass
mindestens eine Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 und/oder ein pharmazeutisches Mittel gemäß einem der Ansprüche 6 bis 11 in einer Kombinationstherapie verwendet werden.
- 15 25. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Kombinationstherapie eine Chemotherapie, eine Zytostatikabehandlung und/oder eine Strahlentherapie umfasst.
20
26. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Kombinationstherapie eine adjuvante biologisch-spezifizierte Therapieform umfasst.
25
27. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Therapieform eine Immuntherapie ist.
30
28. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 27 zur Erhöhung der Sensitivität von Tumorzellen gegenüber Zytostatika und/oder Strahlen.

29. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 28 zur Hemmung der Vitalität, der Proliferationsrate von Zellen, zur Induktion von Apoptose und/oder eines Zellzyklus-Arrests.

5

30. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 und/oder ein pharmazeutisches Mittel gemäß einem der Ansprüche 6 bis 11 als Gel, Puder, Pulver, Tablette, Retard-Tablette, Prämix, Emulsion, Aufgussformulierung, Tropfen, Konzentrat, Granulat, Sirup, Pellet, Boli, Kapsel, Aerosol, Spray und/oder Inhalat zubereitet und angewendet werden.

10

15

31. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine Verbindung gemäß einem der Anspruch 1 bis 5 und/oder ein pharmazeutisches Mittel gemäß einem der Ansprüche 6 bis 11 in einer Konzentration von 0,1 bis 99,5, bevorzugt von 0,5 bis 95,0, besonders bevorzugt von 20,0 bis 80,0 Gewichtsprozent in einer Zubereitung vorliegen.

20

32. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch, dadurch gekennzeichnet, dass die Zubereitung oral, subkutan, intravenös, intramuskulär, intraperitoneal und/oder topisch eingesetzt wird.

25

30

33. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 32, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 und/oder ein pharmazeutisches Mittel gemäß einem der Ansprüche 6 bis 11 in Gesamtmengen von mehr als

35

0,1 g pro kg Körpergewicht je 24 Stunden eingesetzt werden.

34. Verwendung nach einem der Ansprüche 12 bis 33,
5 dadurch gekennzeichnet, dass
mindestens eine Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1
bis 5 und/oder ein pharmazeutisches Mittel gemäß einem
der Ansprüche 6 bis 11 in Gesamtmengen von 0,05 bis
10 500 g pro kg, bevorzugt von 5 bis 100 g pro kg Körper-
gewicht je 24 Stunden eingesetzt werden.
35. Verfahren zur Behandlung einer Tumorerkrankung,
dadurch gekennzeichnet, dass
15 ein Organismus mit einer Verbindung gemäß einem der An-
sprüche 1 bis 5 und/oder einem pharmazeutischen Mittel
gemäß einem der Ansprüche 6 bis 11 mit einer effektiven
Menge der Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 bis
5 in Kontakt gebracht wird.
- 20 36. Verwendung der Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1
bis 5 und/oder der pharmazeutischen Mittel gemäß einem
der Ansprüche 6 bis 11 zur Inhibierung von Kollagen IV
und/oder Glutathion-S-Transferase (GST).
- 25 37. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem
der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet, dass
1-Methyl-4-phenylaminocarbonyl-oxy-prolin-ethylester
durch Umsetzung von 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-
30 ethylester und Phenylisocyanat in Acetonitril gewonnen
wird.
38. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem
der Ansprüche 1 bis 5,
35 dadurch gekennzeichnet, dass

1-Methyl-4-phenylaminocarbonyl-oxy-prolin-isobutylester durch Umsetzung von 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester und Phenylisocyanat in Acetonitril gewonnen wird.

5

39. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass 4-Hydroxy-1-methyl-prolin durch Umsetzung von 4-Hydroxy-prolin in Formalin und Pd/C in einer Hydrierapparatur gewonnen wird.

10

40. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass 4-Hydroxy-1-methyl-prolinethylester durch die Umsetzung von 4-Hydroxy-prolinethylester und Formalin in Ethanol gewonnen wird.

15

41. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester durch die Umsetzung von Formalin, Pd/C und Ethanol und 4-Hydroxy-prolin-isobutylester gewonnen wird.

20

25

42. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass 4-Hydroxy-1-methyl-prolin-isobutylester durch die Umsetzung von Formalin und 4-Hydroxy-prolin-isobutylester im Gegenwart von Pd/C in Ethanol gewonnen wird.

30

43. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet, dass Cis-4-Hydroxy-L-prolinethylester durch In-Kontakt-Bringen von 4-Hydroxy-Prolin in Ethanol mit HCl gewonnen wird.
44. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet, dass
Cis-4-Hydroxy-L-prolin-iso-butylester durch Umsetzung von 4-Hydroxyprolin in Isobutanol gewonnen wird.
45. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet, dass
4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolinethylester-iodid durch Umsetzung von Hydroxyprolinethylester in Acetonitril, Methyliodid und Triethylamin gewonnen wird.
46. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet,
dass 4-Hydroxy-1,1-dimethyl-prolin-iso-butyllester-iodid durch Umsetzung von 4-Hydroxyprolin-Isobutylester und Methyliodid in Triethylamin und Acetonitril gewonnen wird.
47. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet, dass
4-Hydroxy-1-alkyl-prolinester-bromid durch Suspension von 4-Hydroxy-prolinester in Acetonitril und In-Kontakt-Bringen mit dem entsprechenden Alkylbromid in Gegenwart von Ether gewonnen wird.

48. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet, dass
4-Hydroxy-1-cyclohexyl-prolin-isobutyllester durch das
5 Lösen des entsprechenden Hydrobromids in Chloroform und In-Kontakt-Bringen mit Ammoniak-Gas gewonnen wird.
49. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5,
10 dadurch gekennzeichnet, dass
4-Hydroxy-1-diphenylmethyl-prolin-isobutylester-hydrobromid durch In-Kontakt-Bringen von 4-Hydroxyprolin-Isobutyllester, Methyliodid, Triethylamin in Acetonitril gewonnen wird.
- 15 50. Kit umfassend mindestens eine Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 und/oder ein pharmazeutisches Mittel gemäß einem der Ansprüche 6 bis 11 gegebenenfalls mit einer Information zum Kombinieren der Inhalte
20 des Kits.
51. Verwendung des Kits nach dem vorhergehenden Anspruch zur Prophylaxe oder Therapie von Tumorerkrankungen.
- 25 52. Hybridmoleküle und/oder Prodrug-Moleküle umfassend eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 5.
- 30 53. Verwendung der Hybridmoleküle, Prodrug-Moleküle nach Anspruch 52 und/oder der Derivate, Metaboliten, Enantiomere und/oder Isomere der Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Prophylaxe oder Therapie von Tumorerkrankungen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 03/04211

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D207/08 C07D207/16 A61K31/401 A61K31/402 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BEILSTEIN Data, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 35 38 619 A (HOERRMANN WILHELM) 7 May 1986 (1986-05-07) cited in the application the whole document -----	1-53
X	DE 35 18 078 A (HOERRMANN WILHELM) 20 November 1986 (1986-11-20) cited in the application the whole document -----	1-53
X	WO 97/33578 A (HOERRMANN WILHELM) 18 September 1997 (1997-09-18) cited in the application page 2, line 10 - line 15; claims ----- -/--	1-53

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 August 2004

Date of mailing of the international search report

31/08/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hanisch, I

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 03/04211

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/053555 A (LILLY CO ELI ; FILLA SANDRA ANN (US); HUDZIAK KEVIN JOHN (US); MATHES) 11 July 2002 (2002-07-11) claims 1-18,22; example 34 -----	1,2,5,6
X	TIEKINK E R T, SNOW M R ET AL.: "4-Hydroxy-N-methylproline Analogues in melaleuca spp." PHYTOCHEMISTRY, vol. 26, no. 12, 1987, pages 3343-3344, XP002292648 compounds 1,2 -----	2,3,5
X	MARCUCCI F, MUSSINI E: "Separation of proline and hydroxyproline derivatives by thin-layer chromatography" JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY, vol. 18, 1965, pages 431-432, XP009035304 First and fifth compound in table 1, ninth compound in table 2 -----	1-3
X	JP 05 213957 A (TSUMURA & CO) 24 August 1993 (1993-08-24) claim 3; examples -----	1-3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

DE03/04211

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 13, 35, 36, 51 and 53 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out on the basis of the alleged effects of the compound or composition.
2. ☒ Claims Nos.: 1-4, 6-53(all part)
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

SEE SUPPLEMENTAL SHEET ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of I.1

Although claims 13, 35, 36, 51 and 53 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out on the basis of the alleged effects of the compound or composition.

Continuation of I.1

PCT Rule 39.1(iv) – method for treatment of the human or animal body by therapy.

Continuation of I.2

Claims: 1-4, 6-53 (all in part)

The search initially yielded a very large number of documents detrimental to novelty. This number is so large that it becomes impossible to determine a subject matter in any of the claims for which protection might justifiably be sought (PCT Article 6). For these reasons a meaningful search covering the full scope of the claims appears impossible. The search was therefore limited to the compounds of claim 5 as well as to their use, thus covering all the examples. Claims 1-4 and 6-53 were searched only insofar as they relate to the compounds of claim 5. Nonetheless, two documents found by chance were cited, relating to the subject matter of claims 1-3 that does not figure in claim 5. It should again be pointed out that the prior art to this subject matter is presented only by way of example and by no means exhaustively.

Further, claims 52 and 53 of the present application relate to "hybrid molecules", "prodrug molecules" and "metabolites" of the present proline derivatives. These are functional features without technical reference as to how a choice of suitable derivative is to be made and without common general knowledge as to what derivatives are, for example, suitable prodrugs in a given particular case. On pages 4 and 5 the description simply indicates desirable properties, e.g. of a prodrug compound with a masking group, in order to attain a desired result ("sufficient hydrophilia in order to...", etc.), but no technical features. These formulations can, then, be viewed as an invitation to the person skilled in the art to carry out a research project to find out what compounds are covered by the given terms and what not. In such a case, when the subject of the application cannot be applied to the full range without demanding unreasonable expenditure on the part of the person skilled in the art, the disclosure can then be seen as inadequate, especially when there are simple in vivo or in vitro tests available.

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established normally cannot be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. After entry into the regional phase before the EPO, however, an additional search can be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, Part C, VI, 8.5) if the deficiencies that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been remedied.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 03/04211

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 3538619	A	07-05-1986	CA 1281288 C CH 667591 A5 DE 3538619 A1 GB 2171302 A , B JP 1992045 C JP 7023309 B JP 61155324 A US 6153643 A	12-03-1991 31-10-1988 07-05-1986 28-08-1986 22-11-1995 15-03-1995 15-07-1986 28-11-2000
DE 3518078	A	20-11-1986	DE 3518078 A1 DE 3670288 D1 WO 8607053 A1 EP 0223850 A1 US 5665371 A	20-11-1986 17-05-1990 04-12-1986 03-06-1987 09-09-1997
WO 9733578	A	18-09-1997	AU 2380097 A CA 2248765 A1 WO 9733578 A1 DE 19780207 D2 DE 59702322 D1 EP 0912172 A1 ES 2152664 T3 JP 2000506174 T US 6066665 A	01-10-1997 18-09-1997 18-09-1997 11-03-1999 12-10-2000 06-05-1999 01-02-2001 23-05-2000 23-05-2000
WO 02053555	A	11-07-2002	EP 1351951 A2 WO 02053555 A2	15-10-2003 11-07-2002
JP 5213957	A	24-08-1993	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 03/04211

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C07D207/08 C07D207/16 A61K31/401 A61K31/402 A61P35/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07D A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, BEILSTEIN Data, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 35 38 619 A (HOERRMANN WILHELM) 7. Mai 1986 (1986-05-07) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1-53
X	DE 35 18 078 A (HOERRMANN WILHELM) 20. November 1986 (1986-11-20) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1-53
X	WO 97/33578 A (HOERRMANN WILHELM) 18. September 1997 (1997-09-18) in der Anmeldung erwähnt Seite 2, Zeile 10 - Zeile 15; Ansprüche ----- -/-	1-53



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

17. August 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

31/08/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hanisch, I

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02/053555 A (LILLY CO ELI ; FILLA SANDRA ANN (US); HUDZIAK KEVIN JOHN (US); MATHES) 11. Juli 2002 (2002-07-11) Ansprüche 1-18,22; Beispiel 34 -----	1,2,5,6
X	TIEKINK E R T, SNOW M R ET AL.: "4-Hydroxy-N-methylproline Analogues in melaleuca spp." PHYTOCHEMISTRY, Bd. 26, Nr. 12, 1987, Seiten 3343-3344, XP002292648 compounds 1,2 -----	2,3,5
X	MARCUCCI F, MUSSINI E: "Separation of proline and hydroxyproline derivatives by thin-layer chromatography" JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY, Bd. 18, 1965, Seiten 431-432, XP009035304 First and fifth compound in table 1, ninth compound in table 2 -----	1-3
X	JP 05 213957 A (TSUMURA & CO) 24. August 1993 (1993-08-24) Anspruch 3; Beispiele -----	1-3

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 13,35,36,51 und 53 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindungen/Zusammensetzungen.
2. ☒ Ansprüche Nr. 1-4,6-53(all part)
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese Internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser Internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser Internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.1

Obwohl die Ansprüche 13,35,36,51 und 53 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindungen/Zusammensetzungen.

Fortsetzung von Feld I.1

Regel 39.1(iv) PCT – Verfahren zur therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-4,6-53(all part)

Die Recherche ergab in ihrer Anfangsphase eine sehr grosse Zahl neuheitsschädlicher Dokumente. Diese Zahl ist so gross, dass sich unmöglich feststellen lässt, für was in der Gesamtheit der Patentansprüche eventuell zu Recht Schutz begehrt werden könnte (Artikel 6 PCT). Aus diesen Gründen erscheint eine sinnvolle Recherche über den gesamten Bereich der Patentansprüche unmöglich. Die Recherche wurde daher beschränkt auf die Verbindungen des Anspruchs 5 sowie deren Verwendung, wodurch alle Beispiele abgedeckt sind. Ansprüche 1-4 und 6-53 wurden somit lediglich insofern recherchiert als sie sich auf die Verbindungen von Anspruch 5 beziehen. Dennoch wurden zwei zufällig gefundene Dokumente zitiert, die sich auf denjenigen Gegenstand der Ansprüche 1-3 beziehen, der nicht in Anspruch 5 vorkommt. Es wird erneut darauf hingewiesen, dass der Stand der Technik dieses Gegenstands nur beispielhaft und keinesfalls erschöpfend aufgeführt ist.

Ansprüche 52 und 53 der vorliegenden Anmeldung beziehen sich zudem auf "Hybridmoleküle", "Prodrug-Moleküle" und "Metabolite" der vorliegenden Prolinderivate. Dies sind funktionelle Merkmale ohne einen technischen Hinweis darauf, wie eine Auswahl an geeigneten Derivaten zu treffen ist und ohne gängiges Allgemeinwissen, welche Derivate jeweils im Einzelfalle z.B. geeignete Prodrugs sind. Auf Seiten 4 und 5 der Beschreibung werden lediglich wünschenswerte Eigenschaften z.B. einer Prodrug-Verbindung mit einer Maskierungsgruppe angegeben, um ein gewünschtes Ergebnis zu erzielen ("eine ausreichende Hydrophilie... um..." etc.), jedoch keine technischen Merkmale. Diese Ausdrücke können somit als eine Einladung an den Fachmann aufgefasst werden, ein Forschungsprojekt durchzuführen, um herauszufinden, welche Verbindungen unter die genannten Begriffe fallen und welche nicht. In solch einem Fall, wenn der Anmeldungsgegenstand nicht über den gesamten Bereich angewendet werden kann, ohne dem Fachmann einen ungebührenden Aufwand abzuverlangen, kann die Offenbarung als unzureichend angesehen werden, sogar wenn einfache in vivo oder in vitro Tests vorliegen.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit, der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 03/04211

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 3538619 A	07-05-1986	CA 1281288 C CH 667591 A5 DE 3538619 A1 GB 2171302 A , B JP 1992045 C JP 7023309 B JP 61155324 A US 6153643 A	12-03-1991 31-10-1988 07-05-1986 28-08-1986 22-11-1995 15-03-1995 15-07-1986 28-11-2000
DE 3518078 A	20-11-1986	DE 3518078 A1 DE 3670288 D1 WO 8607053 A1 EP 0223850 A1 US 5665371 A	20-11-1986 17-05-1990 04-12-1986 03-06-1987 09-09-1997
WO 9733578 A	18-09-1997	AU 2380097 A CA 2248765 A1 WO 9733578 A1 DE 19780207 D2 DE 59702322 D1 EP 0912172 A1 ES 2152664 T3 JP 2000506174 T US 6066665 A	01-10-1997 18-09-1997 18-09-1997 11-03-1999 12-10-2000 06-05-1999 01-02-2001 23-05-2000 23-05-2000
WO 02053555 A	11-07-2002	EP 1351951 A2 WO 02053555 A2	15-10-2003 11-07-2002
JP 5213957 A	24-08-1993	KEINE	